

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
MESTRADO EM MEDICINA INTERNA**

**CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DAS RESPOSTAS AO
HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA SOBRE A ARTÉRIA
MESENTÉRICA SUPERIOR ISOLADA DE COELHOS**

**MESTRANDO : ELIÉZER SILVA
ORIENTADOR: JOSÉ PAULO DE FIGUEIREDO DRUMMOND
CO-ORIENTADOR: NELSON AKAMINE**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
MESTRADO EM MEDICINA INTERNA**

ELIÉZER SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DAS RESPOSTAS AO
HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA SOBRE A ARTÉRIA
MESENTÉRICA SUPERIOR ISOLADA DE COELHOS**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO CURSO DE MESTRADO EM
MEDICINA INTERNA DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, SOB
ORIENTAÇÃO DO Dr. JOSÉ PAULO DE FIGUEIREDO DRUMMOND,
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE**

FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA

SETEMBRO DE 1994

*O mais importante não é saber tudo e
sim eternamente saber aprender.*

À minha esposa, Concetta

À minha família, Gedy, Amely e Evandro

Especialmente para ti, minha irmã, Milene

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Muitas foram as pessoas responsáveis diretamente pela conclusão deste trabalho. Meus agradecimentos certamente têm início, mas dificilmente terão fim.

Ao meu orientador, cientista, poeta, professor e amigo. Espero que sempre conserve esta infinita arte de ensinar com brilhantismo e humanidade. Dr. Drummond, muito obrigado.

Ao meu co-orientador, protagonista da idéia, guia dos ensaios iniciais, mestre em dirigir esta dissertação. Dr. Akamine, muito obrigado.

Ao Professor J.B. Calixto, que da grandeza de sua figura científica, soube auxiliar e proporcionar a esta tese o brilho com o qual convive. Muito obrigado.

Ao "Doutor" Marcos Antônio Dias, excepcional amigo, braço direito e esquerdo deste trabalho, cientista com todas as qualificações, pessoa íntegra e honesta, um dos grandes. Muito obrigado.

À minha esposa, minha única e verdadeira tese. Que palavras bonitas ouvi no silêncio da tua resignação. Que silêncio acalentador que tuas palavras me proporcionaram. Muito obrigado.

Aos amigos e colegas, Joel de Andrade, Eden Edimur Rossi Junior e Fernando Osni Machado. Exemplos de amizade e solidariedade. Muito obrigado.

À Jô , Marisa e Cida (Biotério Central). O carinho , a compreensão, o talento e a organização de vocês foram fundamentais para meu trabalho. Muito obrigado.

À Bete, Rosana, Adair, Valfredo, amigos da farmacologia. Muito obrigado.

À Tânia, que possui a arte de viver com alegria e a humildade de repartir tal sentimento. Muito obrigado.

À minha família, grandes responsáveis pela minha viagem acadêmica, pela minha seriedade e dedicação. Muito obrigado.

Ao Dr. Alexandre Holthausen Campos. Presença no início dos trabalhos e conselheiro no desenrolar dos mesmos. Muito obrigado.

Aos animais, anônimos, calados, respeitados e sacrificados. Espero honrar e dar significado à doação de suas vidas. Muito obrigado.

A todos aqueles que procuram desenvolver com lealdade as ciências médicas e com dignidade suas profissões, que estenderam a mão quando precisamos e que suportaram nossa indignação e compartilharam da nossa alegria. Muito obrigado.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| I -RESUMO | 10 |
| II- INTRODUÇÃO | 13 |
| III - OBJETIVOS | 20 |
| - Objetivo central | 21 |
| - Objetivos complementares | 22 |
| IV - ESTADO DA ARTE | 23 |
| - Avanço conceitual nos estados de choque e participação da isquemia mesentérica em sua fisiopatologia | 24 |
| - Terapêutica dos distúrbios perfusionais e drogas vasoativas | 30 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e perfusão mesentérica | 31 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e interação com receptores de membrana | 35 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e endotélio | 40 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e óxido nítrico | 42 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e canais iônicos de potássio | 46 |
| - Fundamentos teóricos | 48 |

| | |
|--|------------|
| V - MATERIAL E MÉTODOS | 49 |
| VI - RESULTADOS | 58 |
| VII - DISCUSSÃO | 72 |
| - Interação dos estudos experimentais e da prática clínica | 73 |
| - Propriedades vaso-motoras do hidrocloreto de dopexamina | 76 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e endotélio vascular..... | 78 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e óxido nítrico | 80 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e receptores de membrana celular | 82 |
| - Hidrocloreto de dopexamina e canais iônicos de potássio | 84 |
| - Efeito comparativo do hidrocloreto de dopexamina com outras drogas vasoativas | 87 |
| - Limitações do estudo experimental <i>in vitro</i> | 93 |
| VIII - CONCLUSÕES | 96 |
| IX - ABSTRACT | 100 |
| X - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 103 |
| XI - ANEXO I | 121 |
| XII - ANEXO II | 124 |

RESUMO

RESUMO

Trata-se de um estudo experimental *in vitro*, no qual a caracterização funcional das respostas ao hidrocloreto de dopexamina sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos foi analisada.

Foram utilizados 22 coelhos adultos Nova Zelândia.

Os anéis de artéria mesentérica inicialmente foram mantidos em equilíbrio numa solução de Krebs-Heinseleit por uma hora. Em seguida, solução de potássio hiperosmolar foi adicionada para se observar o efeito contraturante máximo. Brevemente, um tônus com fenilefrina foi induzido e várias curvas dose-resposta com dopexamina foram realizadas, na presença de substâncias inibidoras diversas, na presença e na ausência de endotélio, bem como comparativamente com outros vaso-dilatadores.

O estudo demonstrou marcada ação vaso-dilatadora da dopexamina sobre a artéria mesentérica de coelhos, principalmente por agir em receptores dopaminérgicos. Esta ação se mostrou independente de endotélio, de óxido nítrico ou de canais de potássio (ATP e cálcio-dependentes de pequena condutância).

Comparativamente, dopexamina têm potência menor que nitroprussiato de sódio, dobutamina e acetilcolina. No entanto, tem potência maior que dopamina, sendo desprovida da ação vaso-constritora desta.

Do ponto de vista clínico, abre perspectivas no tratamento de estados de baixo fluxo sanguíneo esplâncnico, principalmente quando se a considera como coadjuvante à repleção volêmica e a outras drogas vasoativas.

Em resumo, trata-se de droga que privilegia fluxo para o leito mesentérico, podendo atuar em estados de severa disfunção endotelial, ou mesmo, em condições de inibição da síntese de óxido nítrico ou de dessensibilização da guanilato ciclase.

INTRODUÇÃO

II - INTRODUÇÃO

As patologias prevalentes em unidades de terapia intensiva têm, como substrato fisiopatológico, distúrbios da oferta e do consumo de oxigênio, traduzidos em muitas oportunidades por disfunções múltiplas de órgãos e sistemas. A percepção clínica destes fatos é imprecisa, pouco sensível e inespecífica.

Com o advento da monitoração invasiva, pode-se hoje avançar conceitualmente nos distúrbios perfusionais e de transporte de oxigênio, bem como na sua terapêutica, através dos parâmetros hemodinâmicos e respiratórios oferecidos pelo método.

O grande desafio neste grupo de patologias é o de se estabelecer qual a demanda de oxigênio exigida pelos tecidos, bem como o de sair do campo sistêmico de parâmetros de oxigenação tecidual e entrar na particularidade do suprimento metabólico adequado a cada órgão ou sistema.

Muitos pesquisadores interessados na fisiopatologia da síndrome de disfunção de múltiplos órgãos, observada em pacientes críticos, supõem que o epitélio intestinal é a origem de mediadores tóxicos, após períodos prolongados de isquemia ou sepse (MEAKINS, MARSHALL,

1989). A mucosa intestinal, que normalmente constitui uma barreira entre o exterior não estéril e o interior estéril, é particularmente suscetível à injúria hipóxica. Essa combinação resulta na liberação de mediadores tóxicos para a circulação sistêmica. A quebra da função de barreira constitui, por si só, uma fonte adicional de mediadores e ativadores de mediadores celulares nos pacientes gravemente enfermos (HAGLUND, 1993).

Conseqüentemente, o direcionamento terapêutico visa manter a estabilidade hemodinâmica, a perfusão tecidual, e prover as necessidades metabólicas celulares. Em virtude da injúria hipóxica ao epitélio intestinal participar da disfunção de múltiplos órgãos, muito se tem pesquisado a respeito da influência das diversas modalidades terapêuticas na reversão da isquemia intestinal.

Neste contexto, justifica-se o estudo crescente do hidrocloreto de dopexamina, que, por melhorar o fluxo sangüíneo para órgãos esplâncnicos (FITTON, BENFIELD, 1990), otimizaria a oferta de oxigênio para o intestino e talvez exerceria papel fundamental no bloqueio de uma série de eventos fisiopatológicos, que se inicia com a isquemia intestinal.

O hidrocloreto de dopexamina (4-[2-[6-(2-feniletil)amino]hexyl]amino]-etil]-1,2-benzenediol) é uma amina simpaticomimética, correntemente avaliada para o tratamento de várias doenças cardiovasculares, incluindo a insuficiência cardíaca congestiva grave. Seu perfil farmacológico mostra atividade agonista sobre receptores β_2 -adrenérgicos e dopaminérgicos DA₁ e DA₂. Em adição, a droga é um potente inibidor da recaptação sináptica da norepinefrina (MITCHELL *et al*, 1987), o que contribui significativamente para seus efeitos cronotrópicos

e inotrópicos positivos em cães anestesiados. Além disso, não possui atividade em receptores α -adrenérgicos. Portanto, a droga exibe ação vaso-dilatadora em vários leitos vasculares, incluindo o território pulmonar, o renal e o mesentérico (FITTON, BENFIELD, 1990). Este último é objeto do presente estudo, uma vez que a ação vaso-dilatadora esplâncnica gerará aumento de fluxo sanguíneo, otimizando a oferta de substratos metabólicos necessários à viabilidade histológica e funcional do trato gastrointestinal e inibindo reações adversas, oriundas da hipóxia regional.

O hidrocloreto de dopexamina atua fundamentalmente em receptores DA₁ e β_2 -adrenérgicos dos vasos mesentéricos, resultando em vaso-dilatação. A estimulação desses receptores produz aumento na formação de AMP cíclico, diretamente proporcional à concentração da droga, funcionando como segundo mensageiro (AMENTA *et al*, 1991). Esta via foi bem estabelecida e reconhecida até então como a única.

A ação farmacológica de determinada droga está sendo gradativamente melhor entendida em virtude do crescente aparato tecnológico, disponível para pesquisa nesta área. É indiscutível que este conhecimento, ora gerado, fornece subsídios importantes para a prática clínica. Estudos de *binding*, *patch clamp*, radiografias de receptores, compreensão dos canais iônicos, biologia molecular etc, viabilizaram ao meio científico dissecar profundamente aspectos farmacológicos de relevância na interação droga/resposta celular. Moléculas partícipes destas interações são hoje evidenciadas, isoladas e clonadas.

Em virtude do crescente interesse no óxido nítrico em várias áreas da medicina (PALMER, FERRIGE, MONCADA, 1987; JOHNS, 1991; VANHOUTTE, 1988; HAMID *et al*, 1993), principalmente em

relação ao seu importante poder vaso-dilatador (FURCHGOTT, 1988), bem como em sua participação em processos fisiopatológicos, tal como, hipotensão arterial relacionada a sepse (STOCLET *et al*, 1993), emerge a especulação científica de que a dopexamina poderia de alguma forma interagir com a via da L-arginina, aumentando a produção de óxido nítrico, o que contribuiria para ação vaso-dilatadora da droga. Esta hipótese foi levantada no momento do desenho do presente estudo.

Existe uma importante interrelação entre função endotelial e produção de óxido nítrico. É bem conhecido que isquemia miocárdica, seguida de reperfusão, leva à severa disfunção endotelial, caracterizada por impedimento da ação vaso-dilatadora dos fatores relaxantes derivados do endotélio (KU , 1982). Recentemente, o endotélio tem sido reconhecido como um sítio crítico de alterações importantes, após isquemia e reperfusão da vasculatura esplâncnica (LEFER, XIN-LIANG, 1993). Fatores relaxantes do endotélio estão sendo gradativamente estabelecidos e o óxido nítrico é um dos seus principais representantes. Portanto, disfunção endotelial tem íntima relação com alterações da produção de óxido nítrico.

Óxido nítrico endógeno é sintetizado a partir da L-arginina por vários tipos de óxido nítrico-sintetases. Algumas isoenzimas podem ser induzidas por citocinas inflamatórias. Em pacientes sépticos, essas isoenzimas são largamente produzidas, com conseqüente aumento da síntese de óxido nítrico (GIBALDI, 1993). O resultado fisiopatológico é a hipotensão arterial, muitas vezes severa, encontrada nesses pacientes. Em contrapartida, no território vascular mesentérico, uma vez instalada a lesão endotelial secundária ao processo inflamatório sistêmico (síndrome da resposta inflamatória sistêmica), poderia ocorrer vaso-constricção, deteriorando o fluxo sanguíneo para o trato gastrointestinal. Drogas

que tivessem ação dilatadora e provocassem aumento da produção de óxido nítrico reverteriam em parte a injúria hipóxica a estes tecidos. Em contrapartida, a ação farmacológica independente da via do óxido nítrico, também representaria importante papel na reversão da vaso-constricção em situações de injúria endotelial importante.

O interesse de se determinar a participação dos canais iônicos, em especial os de potássio, na resposta celular à ação da droga, advém do crescente entendimento da dinâmica destes canais. Inibidores dos canais de potássio ATP-dependentes (glibenclamida) e cálcio-dependentes de pequena condutância (apamina) foram utilizados para este fim (LATORRE *et al*, 1989). Estão bem estabelecidas várias participações dos canais de potássio nos processos fisiológicos e farmacológicos (HARVEY, 1993; ANABUKI *et al*, 1990; HERMSMEYER, 1988). Um dos estudos mais importantes, envolvendo os canais de potássio, refere-se aos hipoglicemiantes orais, que através de sua ação inibitória sobre estes canais, provocam despolarização celular, influxo de cálcio, contração de vesículas contendo insulina e, finalmente, secreção deste hormônio (HENQUIN apud COOK, 1988). No que se refere às drogas vasomotoras, o pinacidil e a cromakalina são poderosos relaxantes da musculatura lisa vascular e são classificados como ativadores dos canais de potássio (HAMILTON, WESTONS, 1989). Portanto, abre-se a perspectiva de que várias drogas de ação vaso-dilatadora interagiriam com estes canais, propiciando-lhes a abertura, o conseqüente efluxo de potássio e o relaxamento da musculatura lisa, *pinacidil-like*.

Desta forma, a presente dissertação tem por objetivo demonstrar, mediante estudo experimental *in vitro*, em anéis de artéria mesentérica superior de coelhos, a caracterização funcional das respostas

vasomotoras da dopexamina, bem como verificar a participação do endotélio, da via do óxido nítrico e dos canais de potássio. A caracterização funcional da dopexamina contribuiria para o melhor entendimento do potencial terapêutico em situações clínicas, onde ocorreria lesão endotelial difusa associada à isquemia intestinal.

As pesquisas neste campo avançam de um modo crescente, principalmente na América do Norte e na Europa. A par das contribuições em outras áreas do saber da Clínica Médica, que sustentam a importância da temática, estudos específicos regionais (Santa Catarina) são inexistentes. Isto nos leva a afirmar que a realidade de trabalho como este, sobretudo em virtude das contribuições à prática médica, pode constituir, em futuro breve, promissora linha de pesquisa.

OBJETIVOS

OBJETIVO CENTRAL

**DEMONSTRAR AS PROPRIEDADES VASO-MOTORAS DO
HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA SOBRE A ARTÉRIA
MESENTÉRICA SUPERIOR ISOLADA DE COELHOS**

OBJETIVOS COMPLEMENTARES:

VERIFICAR A PARTICIPAÇÃO DO ENDOTÉLIO VASCULAR NA AÇÃO VASO-RELAXANTE DO HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA

CONSTATAR A PARTICIPAÇÃO DA VIA DO ÓXIDO NÍTRICO NA AÇÃO VASO-RELAXANTE DO HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA

VERIFICAR A PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE POTÁSSIO NAS PROPRIEDADES VASO-MOTORAS DO HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA

ESTADO DA ARTE

IV - ESTADO DA ARTE

◆ *Avanço conceitual nos estados de choque e participação da isquemia mesentérica em sua fisiopatologia*

A fim de se entender o avanço conceitual nos estados de choque e no seu tratamento, reportar-se-á à primeira descrição deste quadro patológico e às tentativas terapêuticas iniciais, numa evolução que vai da introdução da mensuração da pressão arterial à utilização da monitoração invasiva, caracterizada principalmente pela oferta de subsídios hemodinâmicos e de transporte de oxigênio. Dentro desta perspectiva, destaca-se a utilização de drogas vasoativas, onde está incluso atualmente o hidrocloreto de dopexamina.

Choque é uma expressão médica inglesa que foi aparentemente primeiro utilizada em 1743, numa tradução por Sparrow da segunda edição francesa de Henri François Le Dran de "A Treatise of Reflections Drawn from Experience with Gunshot Wounds". Iniciado com este trabalho e continuando até o final do século XIX, choque foi definido puramente com bases em descrições clínicas. Em 1895, John Collins Warren considerou choque "uma pausa no ato de morrer", caracterizado por "sudorese fria e pegajosa e um pulso radial fraco e filiforme"(FINK, 1991). A partir da introdução da mensuração da pressão arterial, no início

deste século, choque foi usado como sinônimo de hipotensão arterial. A noção de choque como manifestação de hipoperfusão tecidual surge a partir de 1919 nas descrições de Canon, Keith, Blalock e Cournand (FINK, 1991), este último em 1943.

O período pós-guerra é caracterizado por progressos terapêuticos, principalmente na área do trauma, quando os pacientes eram mantidos vivos através da infusão de fluidos, tratando vigorosamente o choque hipovolêmico e permitindo maior sobrevida. Origina-se desta terapêutica um perfil diferente na evolução clínica. Estes pacientes, seriamente traumatizados, sobrevivem ao insulto inicial e passam a apresentar processos infecciosos sistêmicos, insuficiência renal e respiratória. Descrições clínicas detalhadas destes pacientes dão início a um entendimento progressivo dos distúrbios de oferta e consumo de oxigênio para os tecidos, corroborando que choque é uma doença metabólica. O conceito de síndrome da disfunção de múltiplos órgãos, a partir de vários insultos, cresce no meio médico e desperta interesse principalmente em sua fisiopatologia e terapêutica, bem como em sua profilaxia.

No início da década de 70, com o advento do catéter dirigido por fluxo de Swan e Ganz (SWAN et al, 1970), os parâmetros hemodinâmicos e de transporte de oxigênio ganham forte impulso, proporcionando a associação de vários estudos experimentais e clínicos, dentro de um melhor entendimento fisiopatológico.

A falência do método clínico convencional, que utilizava apenas sinais e sintomas para estimar a adequada perfusão tecidual, tem estimulado o interesse em métodos invasivos e não invasivos para avaliação do transporte de oxigênio.

Em 1991, foi publicado um simpósio no periódico *Critical Care Medicine*, sobre Perfusão Tecidual, onde são discutidos vários aspectos do tema. É de notória contribuição a descrição do modelo experimental da "dependência patológica do suprimento de oxigênio" (CAIN, CURTIS, 1991), que define a situação extremamente comum, em pacientes sépticos e/ou com síndrome da angústia respiratória do adulto, em que há queda linear da oferta e do consumo de oxigênio e conseqüente latiacidemia. Este modelo vem recebendo críticas, em virtude principalmente de recentes publicações que demonstram, em pacientes criticamente enfermos, a heterogeneidade das variáveis de transporte de oxigênio, em muitas situações discordantes daquelas propostas por Cain e Curtis (PINSKY, 1994; HANIQUE *et al*, 1994).

A pesquisa na área de perfusão e oxigenação tecidual ganha novos armamentos, quando se deixa apenas de considerar a oferta e o consumo sistêmicos de oxigênio e se procura investigar estes parâmetros em cada órgão. De todos os métodos conhecidos para este fim, ganhou notoriedade a utilização da tonometria gástrica (FIDDIAN-GREEN, 1984). Desde então, o método começou a ser difundido para avaliar perfusão e oxigenação de órgãos esplâncnicos, através da mensuração do pH intramucoso gástrico ou entérico (FIDDIAN-GREEN, 1992).

O método prescreve a inserção de um catéter nasogástrico, em cuja extremidade distal está colocado um balão de silicone, permeável ao CO₂, que será preenchido por solução salina. Após um dado momento (aproximadamente 90 minutos), haverá equilíbrio entre esta solução e o líquido do lúmen gastrointestinal. Pelas propriedades de difusão do CO₂, a concentração deste gás será a mesma na mucosa e no interior deste balão. A PCO₂ da solução salina, aspirada do balão, será medida através de

analisador convencional de gases. O pH intramucoso (pHi) é calculado pela substituição, na equação de Henderson-Hasselbach modificada, da PCO_2 plenamente equilibrada, derivada do aspirado do balão e o bicarbonato sérico, retirado por punção arterial simultânea (FIDDIAN-GREEN, 1992).

A mensuração do pHi está baseada no conhecimento de que a PCO_2 no lúmen intestinal é a mesma das camadas superficiais da mucosa, assumindo-se que a concentração de bicarbonato no líquido tecidual da mucosa está em equilíbrio com a concentração de bicarbonato nos capilares sangüíneos e que esta é a mesma daquela do sangue arterial, que lhe é ofertado. Quando ocorre metabolismo anaeróbico, o CO_2 é liberado em quantidades equimolares em relação à produção de íons hidrogênios. O grande benefício clínico da mensuração do pHi é que ele fornece absoluta medida metabólica da adequação da oxigenação da mucosa intestinal (GRUM et al, 1984), numa região do corpo que está entre as primeiras a serem afetadas no choque e a última a ser normalizada, após ressuscitação (HARTMANN et al, 1991). O pH intramucoso permanece dentro dos limites da normalidade quando a oferta de oxigênio para aquele segmento do intestino satisfaz às necessidades metabólicas e quando o consumo é independente da oferta. Contudo, quando o consumo de oxigênio pelos tecidos está limitado pela disponibilidade, o pH intramucoso cai para níveis anormalmente baixos, de modo paralelo à queda da oferta de oxigênio. O achado de um pHi anormalmente baixo, portanto, é uma evidência de oxigenação tecidual inadequada, de metabolismo anaeróbico ou de consumo de oxigênio dependente da oferta, naquela região do corpo. O nível crítico de oferta de oxigênio, no qual o pHi cai e a dependência do suprimento se desenvolve, depende da maneira pela qual a oferta está diminuída. O ponto crítico ocorre num nível mais alto de oferta de oxigênio,

principalmente quando o fluxo sanguíneo está reduzido, do que quando a quantidade de oxigênio no sangue está diminuída. Portanto, a variável fluxo é de importância fundamental para a nutrição dos tecidos.

As alterações de fluxo sanguíneo nos estados de choque contribuem para o desarranjo fisiológico dos órgãos, que se tornam parcialmente isquêmicos. Este fenômeno propicia o desencadeamento das disfunções orgânicas e, portanto, torna-se obrigatoriamente visado no contexto terapêutico atual. Isto é, a reposição volêmica e o uso de drogas vasoativas fazem vislumbrar a possibilidade de se atuar de forma efetiva na reversão dos distúrbios de fluxo. Um dos principais componentes do fluxo, do ponto de vista mecânico, é a resistência ou impedância vascular. É exatamente neste ponto que o hidrocloreto de dopexamina atua, promovendo vaso-dilatação do leito arterial mesentérico, diminuindo a resistência desta vasculatura e melhorando o fluxo sanguíneo para os órgãos esplâncnicos. A consequência é uma melhor oferta de oxigênio a estes tecidos, podendo ter importante papel na reversão da disfunção orgânica. É fundamental pontuar que, em condições como as do choque séptico, tanto o fluxo sanguíneo está alterado por mudanças na vasomotricidade, como também há modificações microcirculatórias e celulares que são pouco atingidas pela ação de drogas vasoativas. Conclui-se, portanto, que se atua apenas sobre um mecanismo fisiopatológico.

Dentro deste contexto, modelos clínicos e experimentais procuram correlacionar as alterações isquêmicas da mucosa intestinal com a síndrome clínica da disfunção de múltiplos órgãos. No choque endotóxico experimental, a perfusão intestinal diminui dramaticamente, mesmo quando o débito cardíaco permaneça normal ou mesmo aumente (FINK et al, 1989). Isquemia mesentérica relativa ou absoluta é ocorrência comum na

maioria das formas de choque, incluindo o séptico, caracterizado por resistência vascular sistêmica baixa e débito cardíaco normal ou alto (HEARD, FINK, 1991). O intestino funcionaria como um "motor" da disfunção e, posteriormente, da falência de múltiplos órgãos e sistemas. As evidências que suportam esta afirmativa são: a translocação bacteriana para linfonodos, em pacientes com obstrução intestinal mecânica simples (DEITCH, 1990); a grande proporção de pacientes com choque hemorrágico apresentando hemoculturas positivas (RUSH *et al*, 1988); a observação de que as mais comuns espécies microbianas isoladas em culturas do trato gastrointestinal proximal, em pacientes cirúrgicos criticamente enfermos, são também as que mais comumente causam infecções invasivas nestes pacientes (MARSHAL *et al*, 1988); a constatação de que a administração de lipopolissacarídeos a voluntários humanos aumenta a permeabilidade intestinal (O'DWYER *et al*, 1988); e, finalmente, a verificação de que a sobrevivência após o choque hemorrágico é melhorada em animais livres de germes (RUSH *et al*, 1989) ou após a administração oral de antibióticos não absorvíveis, ativos contra bactérias gram-negativas. Alguns estudos suportam que a descontaminação seletiva do trato gastrointestinal pode ser benéfica em grupos de pacientes, principalmente traumatizados (in HAMMOND *et al*, 1994; KOLLEF, 1994); no entanto, estudo recente randomizado, duplo-cego não conseguiu provar tal hipótese (HAMMOND, POTGIETER, SAUDERS, 1994).

Esta interação cria um ciclo de retroalimentação positiva, onde qualquer estado de choque induz à isquemia intestinal, e esta isquemia propicia que bactérias ou produtos bacterianos ganhem a corrente sanguínea, desencadeando uma série de eventos, através da liberação de mediadores inflamatórios, os quais por sua vez promovem outros distúrbios de fluxo e agravamento da função miocárdica e da hipovolemia, o que, em

última análise, piora a isquemia intestinal e também aumenta a permeabilidade dos capilares localizados neste órgão, reiniciando assim o ciclo.

◆ *Terapêutica dos distúrbios perfusionais e drogas vasoativas*

Quando se considera a terapêutica das enfermidades caracterizadas por distúrbios perfusionais e da oxigenação tecidual, é mister sempre relacionar três fatores primordiais: a oferta, o consumo e a taxa de extração de oxigênio. Naturalmente que o evento desencadeante deve ser revertido prontamente, porém os mecanismos fisiopatológicos, que culminam em alterações no transporte de oxigênio, têm merecido amplo enfoque terapêutico.

A atenção é direcionada para a otimização da oferta de oxigênio aos tecidos, principalmente quando se considera que o parâmetro a ser atingido é o equilíbrio hemodinâmico em um dado estado de demanda metabólica. Esta nova adequação refletirá a reserva fisiológica do organismo e as propriedades inerentes aos compostos farmacológicos, interagindo com as reações bioquímicas celulares.

O enfoque não pressupõe o reducionismo a uma medida terapêutica isolada como equacionadora do problema: ao contrário, destaca apenas uma delas, que seria a da utilização de uma droga, que melhoraria o fluxo esplâncnico, mediante sua ação prioritária em receptores promotores de vaso-dilatação nesta topografia.

As drogas vasoativas que habitualmente são empregadas nos pacientes criticamente enfermos incluem dobutamina, epinefrina, norepinefrina, dopamina, nitroprussiato de sódio, inibidores da fosfodiesterase e dopexamina. Esses pacientes frequentemente requerem suporte inotrópico, a fim de se obter estabilidade hemodinâmica e otimizar oferta de oxigênio. Neste contexto, as catecolaminas são ainda o eixo central deste suporte (KULKA, TRYBA, 1993). Contudo, o uso de catecolaminas é limitado por efeitos colaterais, como taquicardia, hipertensão e distúrbios de perfusão orgânica, causados pelo efeito vaso-constritor. Além desses, muitas catecolaminas induzem arritmias cardíacas. Talvez residam nestes pontos os maiores benefícios da dopexamina. Esta droga não apresenta ação vaso-constritora e induz menor taxa de arritmias. Soma-se a esses a propriedade de aumentar oferta de oxigênio para o intestino, fígado e músculos nos pacientes sépticos (LUND, *et al*, 1992; MacKINNON, *et al*, 1992).

O que se objetiva nessa dissertação, além da caracterização funcional da dopexamina sobre a artéria mesentérica, é registrar e comparar o efeito vaso-relaxante da dopamina, dobutamina e nitroprussiato de sódio sobre a referida artéria.

◆ *Hidroclorato de dopexamina e perfusão mesentérica*

Os trabalhos iniciais, que descrevem o uso clínico ou experimental da dopexamina (HAKIM *et al*, 1988, STEPHAN *et al*, 1990; VINCENT, REUSE, KAHN, 1989), destacam sua capacidade de atuar em estados de baixo fluxo, melhorando a performance miocárdica, por

intermédio da diminuição da resistência vascular sistêmica, de modo direto, e aumento do débito cardíaco, de modo indireto (recaptação da norepinefrina). Além disso, propicia vasodilatação esplâncnica, otimizando oferta de oxigênio a estes tecidos. Com o crescente entendimento da ação deste fármaco e da própria fisiopatologia dos distúrbios perfusionais, com grande atenção à perda, pelo intestino, de sua função de barreira, secundária à isquemia, a perspectiva de utilização desta catecolamina sintética em tais situações é inevitável. Infere-se, pois, que a otimização do fluxo esplâncnico representaria uma parcela importante na reversão do processo fisiopatológico. Novamente chama-se a atenção ao fato de estar sendo apenas considerado um ponto, dentro do atual contexto clínico exposto.

Expansão volêmica é usualmente usada no choque séptico para aumentar débito cardíaco e, portanto, oferta de oxigênio (DO₂). Adicionalmente, várias medicações, tais como dopamina, dobutamina, norepinefrina, epinefrina e mesmo prostaciclina (um potente vasodilatador), têm sido usadas como coadjuvantes terapêuticas para aumentar DO₂ ou mesmo manter perfusão tecidual, a despeito de baixa pressão arterial. Diminuição da pós-carga para o ventrículo esquerdo, associada à manutenção da função miocárdica, presumivelmente promoveria melhor fluxo sanguíneo periférico, mesmo em condições sépticas. Esta combinação de ação inotrópica e vaso-dilatação periférica é oferecida pela dopexamina, altamente específica para receptores β_2 e dopaminérgicos (BROWN *et al*, 1985a; de MARCO *et al*, 1988; STANFORD, 1991) . Dopexamina, desta forma, tem a propriedade de aumentar DO₂ em estados sépticos. Este atributo foi demonstrado quando expansão de volume foi realizada com e sem dopexamina, em cães anestesiados, que receberam bolus de endotoxina

(CAIN, CURTIS, 1991). Tanto a oferta quanto o consumo de oxigênio aumentaram nos cães em que a droga foi utilizada.

Em outro estudo, Boyd *et al*, embasados na prerrogativa de que valores supra-normais cárdio-respiratórios, no peri-operatório de cirurgias de grande risco, melhoram a sobrevida (SHOEMAKER, *et al*, 1988), administraram dopexamina a oito pacientes que seriam submetidos a cirurgia vascular eletiva. Os autores procuraram demonstrar que este composto, diferente de outras catecolaminas (dobutamina e norepinefrina), elevaria a oferta de oxigênio, sem, no entanto, aumentar a demanda. Concluíram que a dopexamina efetivamente incrementou a oferta de oxigênio com limitado aumento da demanda total e miocárdica (BOYD, GROUNDS, BENNETT, 1993). Este estudo sofreu críticas, pois, na verdade não houve mensuração da demanda metabólica total nem miocárdica (TAN, BHATT, 1993).

O efeito positivo da dopexamina sobre a DO₂ levanta a possibilidade de diferenças regionais na distribuição desta oferta aumentada. Há várias razões a serem consideradas quanto às diferenças regionais na distribuição de fluxo sangüíneo. A ação dopaminérgica da dopexamina aumentaria fluxo sangüíneo para os músculos, enquanto o otimizaria para o intestino, ambas ações reportadas com a dopamina (STANFORD, 1991). Ao contrário, a vasodilatação periférica, obtida pela estimulação de adrenorreceptores β_2 , poderia superar ou predominar mais em um sistema orgânico do que em outro. É importante considerar que, durante o estado séptico, ocorreria resistência à ação das catecolaminas, o que poderia alterar profundamente as propriedades distributivas de fluxo (BERSTEN *et al*, 1992). Em estudo específico para responder a este questionamento, foi concluído que dopexamina temporariamente aumentou

a oferta e o consumo de oxigênio sistêmicos em cães endotóxicos, expandidos com fluidos durante normoxia, podendo ter causado melhor perfusão para mucosa intestinal e, portanto, mantendo-a melhor oxigenada (CAIN, CURTIS, 1991).

Estas afirmações encontram divergências na literatura, demonstrando que, nos estados sépticos, a resistência dos receptores às catecolaminas predominaria sobre seu efeito na distribuição de fluxo (BERSTEN *et al*, 1992). O impedimento da estimulação de receptores β -adrenérgicos para a produção de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) em choque séptico, em humanos, foi detalhado em recente publicação, demonstrando que havia disfunção de proteína G acoplada aos receptores β , o que seria uma das razões da hiporresponsividade miocárdica às catecolaminas (SILVERMAN *et al*, 1993). Independente da causa do distúrbio perfusional, cabem aos experimentos estabelecer padrões de resposta às drogas que agem predominantemente em receptores vasculares, capazes, portanto, de alterar o fluxo sanguíneo.

Na tentativa de mensurar o efeito protetor da dopexamina sobre o intestino e o fígado, em pacientes gravemente enfermos, Smithies *et al*, realizaram estudo prospectivo, envolvendo dez pacientes sépticos, avaliando variáveis hemodinâmicas, de transporte de oxigênio, pH intramucoso gástrico e o *clearance* da indocianina verde, após a infusão de dopexamina. Observaram que o pH intramucoso aumentou em sete dos dez pacientes, com aumento médio de 7,21 para 7,29, representando uma diminuição de 9% na concentração do íon hidrogênio (SMITHIES *et al*, 1994). Esta melhora no pH intramucoso refletiria uma melhor oxigenação tecidual e parece não estar relacionada apenas com o aumento do índice cardíaco, o que significaria, portanto, redistribuição de fluxo para artéria

mesentérica. É importante salientar que, em estados sépticos, há freqüentemente disfunção endotelial. Nesse estudo, dopexamina manteve sua ação vaso-dilatadora sobre a artéria mesentérica, a despeito de tal condição fisiopatológica. É objetivo do presente trabalho analisar a relação da dopexamina com o endotélio vascular mesentérico.

◆ *Hidrocloreto de dopexamina e interação com receptores de membrana*

O conhecimento da interação entre dopexamina e receptores vasculares é destaque em várias publicações (BROWN *et al*, 1985a; BASS *et al*, 1987; BOHM *et al*, 1988). Especificamente em relação à artéria mesentérica, foram bem estabelecidas as propriedades de ligação agonista com receptores dopaminérgicos e adrenorreceptores β_2 . O subtipo DA₁ tem sido considerado o principal responsável pela ação vaso-dilatadora da droga, seguido pelo β_2 . Estes receptores localizam-se em toda parede vascular (adventícia, média e íntima) (AMENTA *et al*. 1991). A ação da droga sobre estes receptores promove vaso-dilatação, mediada pelo aumento proporcional de AMP cíclico neste tecido. Os efeitos sobre outros tecidos do organismo foram relatados por estudos experimentais *in vitro*.

A atividade do hidrocloreto de dopexamina em receptores periféricos dopaminérgicos e adrenorreceptores tem sido avaliada e caracterizada por comparação com agonistas padrões destes receptores. Os receptores DA₁ são encontrados predominantemente na musculatura lisa dos leitos vasculares renal, mesentérico, coronariano e cerebral. Estimulação destes receptores promove vaso-dilatação, aumentando o fluxo

sangüíneo para estes territórios (SMITH, O'CONNOR, 1988). Em adição, ativação de receptores DA₁ nos túbulos renais produz natriurese e diurese (LOKHANDWALA, BARRET, 1982).

A avaliação do efeito da dopexamina sobre receptores vasculares DA₁ foi realizada, utilizando cães anestesiados nos quais os receptores DA₂, β_1 e β_2 foram bloqueados. Dopexamina produziu aumento do fluxo sangüíneo renal e diminuição da resistência vascular sistêmica (DE¹ 20% $2,3 \times 10^{-8}$ mol/kg), quando injetada diretamente na artéria renal, com aproximadamente um terço da potência da dopamina (BROWN *et al*, 1985). Estudo semelhante realizado com carneiros recém-natos, após bloquear os receptores β -adrenérgicos, revelou que a queda da resistência vascular sistêmica não foi afetada e, portanto, a vaso-dilatação foi induzida pela ação dopaminérgica (TAYLOR *et al*, 1993). Interessante registrar que o aumento de fluxo renal induzido pela dopexamina, permanece em pacientes com doença renal crônica de várias etiologias, pela manutenção da interação com receptores dopaminérgicos e adrenérgicos (ATALLAH *et al*, 1992).

Receptores DA₂ estão localizados antes da junção dos nervos simpáticos periféricos e, quando estimulados, medeiam a redução da liberação da norepinefrina. Isto resulta na redução generalizada do tônus simpático no sistema vascular, causando atenuação benéfica da vaso-constricção e estimulação cardíaca induzida via sistema simpático (SMITH, O'CONNOR, 1988). A atividade agonista da dopexamina sobre os receptores DA₂ foi mensurada em gatos anestesiados, após bloqueio dos adrenorreceptores β_2 e recaptção tipo 1. Nestes animais a taquicardia por estimulação contínua foi inibida pela dopexamina.

¹ Dose efetiva 20%

Em relação aos receptores adrenérgicos β_2 , que estão localizados no músculo liso da vasculatura arterial (particularmente no leito arterial dos músculos esqueléticos) e, quando estimulados, produzem vaso-dilatação, a dopexamina tem forte ação agonista. Recentemente, tem sido reconhecido que adrenoceptores β_2 coexistem no coração com os adrenoceptores β_1 . Eles estão envolvidos nas ações inotrópicas e cronotrópicas de algumas catecolaminas (BRODDE *et al*, 1986; BRISTOW *et al*, 1986).

A atividade agonista da dopexamina sobre adrenoceptores β_1 foi avaliada em vários modelos experimentais. Esses receptores encontram-se predominantemente no coração e são responsáveis pelos efeitos inotrópicos e cronotrópicos positivos, produzidos pela estimulação dos nervos simpáticos e pelas catecolaminas. Eles também estão implicados nas ações arritmogênicas. Agonismo direto da dopexamina produziu aumento da frequência de batimentos no átrio isolado de *guinea-pig*, na presença de cocaína, sendo, entretanto, antagonizado pelo propranolol. Este aumento correspondeu a apenas 10% relativamente ao isoproterenol (BROWN *et al*, 1985).

Fraco efeito inotrópico e cronotrópico positivo tem sido descrito em átrios perfundidos, isolados de corações de *guinea-pig* (BROWN *et al*, 1984), e em trabéculas atriais humanas e de miocárdio ventricular (BOHM *et al*, 1988). Dopexamina tem fraca ligação com receptores β_1 e produz discreto aumento da frequência atrial em tecidos isolados e esta ação é bloqueada por propranolol (MITCHELL *et al*, 1987; SMITH, O'CONNOR, 1988). Em contraste aos efeitos acima, dopexamina demonstrou um marcado efeito inotrópico positivo sobre o átrio isolado de *guinea-pig*. Esta resposta foi atenuada com propranolol e abolida com pré-

tratamento com reserpina, implicando, por conseguinte, que dopexamina tem ação simpático-mimética indireta, mediada pela inibição da recaptção neuronal de catecolaminas (recaptção do tipo I).

Estudos hemodinâmicos em animais têm indicado que a dopexamina é vaso-dilatador regional e um potente agente na redução da pós-carga, com leves propriedades cárdio-estimulantes. Os principais efeitos cardiovasculares da infusão intra-venosa de dopexamina foram a queda da pressão arterial, da resistência vascular sistêmica e da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo e o aumento da frequência cardíaca, do índice de contratilidade do ventrículo esquerdo e do débito cardíaco (BASS *et al*, 1987; BIRO *et al*, 1988; BROWN *et al*, 1985b; SMITH, NAYA 1988).

O perfil hemodinâmico da dopexamina foi caracterizado através de um programa de estudos clínicos e era composto de três fases distintas. A primeira, em voluntários sadios, revelou que a dopexamina aumenta o débito cardíaco de maneira dose-dependente. Proporcionou aumento da amplitude do pulso e da frequência cardíaca. Diminuiu a resistência vascular renal. Na segunda fase, utilizando pacientes com insuficiência cardíaca (NYHA II a IV ²), dopexamina aumentou o índice cardíaco e a frequência cardíaca e diminuiu a resistência vascular sistêmica. A última fase, avaliando a resposta de pacientes com severa insuficiência cardíaca, confirmou os resultados da segunda fase (FOULDS, 1988).

² *New York Heart Association* - diz respeito à classe funcional dos pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, segundo esta associação.

Dopexamina também foi utilizada em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca que apresentavam baixo débito cardíaco. A utilização do fármaco, foi testada em infusões de curta e longa duração. Dopexamina aumentou o índice cardíaco associado à diminuição da resistência vascular sistêmica. Os efeitos hemodinâmicos favoráveis foram mantidos durante todo o experimento, não havendo atenuação dos mesmos (FRIEDEL *et al*, 1992).

Em estudo comparativo com dopamina e dobutamina, nos estágios iniciais do infarto agudo do miocárdio, a dopexamina mostrou melhora da função miocárdica, principalmente pela queda da pós-carga, e menores taxas de arritmias ventriculares (66% x 100%). Dopexamina também reduziu significativamente a mortalidade por fibrilação ventricular e houve leve redução na incidência e na duração da taquicardia e da fibrilação ventricular (PARRATT, WAINWRIGHT, FAGBEMI, 1988). Comparativamente apenas com a dobutamina, em pacientes com insuficiência cardíaca crônica, dopexamina produziu aumento do índice cardíaco por aumentar a frequência cardíaca e o volume sistólico e diminuir a resistência vascular sistêmica. Esses resultados foram similares com a dobutamina. A única diferença entre estes compostos foi a não atenuação dos parâmetros hemodinâmicos, alcançados com a dopexamina em 48 horas de infusão endovenosa (BAUMANN *et al*, 1990).

Em situações clínicas de baixo débito cardíaco, dopexamina promove vaso-dilatação em alguns leitos viscerais, tais como o renal e o hepato-esplâncnico (LEIER *et al*, 1988).

A relação da dopexamina com o trato gastrointestinal vem sendo objeto de estudos, principalmente de Cain e Curtis. Estes autores

publicaram recentes resultados, mostrando que a dopexamina mantém a oferta de oxigênio em cães endotóxicos, ressuscitados com volume (dextran e concentrados de hemácias), comparativamente com um grupo que não recebeu a droga (BREDLE, CAIN, 1991). Num segundo estudo, examinaram as respostas do consumo de oxigênio (VO_2) e o lactato sérico de músculos esqueléticos (membro inferior) e intestino, tendo como principal objetivo estabelecer se a dopexamina causava diferenças regionais na distribuição da DO_2 (CAIN, CURTIS, 1991). Os resultados deste segundo estudo demonstraram que, com o uso da dopexamina, não havia marcada diferença na distribuição regional da DO_2 para o músculo esquelético e para o intestino. Os níveis de lactato sérico aumentaram em ambos os grupos (tratados e não tratados com dopexamina); contudo, dopexamina previniu o aumento do débito de lactato originário do intestino. Para explicar este fato, foi postulado que a ação β_2 -adrenérgica, na vasculatura mesentérica, promoveria melhor fluxo sanguíneo para a mucosa intestinal e que os altos níveis de lactato, oriundos do intestino, no grupo não tratado com dopexamina, seriam resultantes da hipóxia regional dentro da parede intestinal, a despeito de altos níveis da DO_2 sistêmica. Esta tese foi embasada nas evidências da literatura de que o fluxo sanguíneo para a mucosa intestinal é aumentado por agonistas β -adrenérgicos (SHEPHERD, *et al*, 1984; KVIETYS, GRANGER, 1982) e dopaminérgicos (KULLMAN, BREULL, WASSERMAN, 1983).

◆ *Hidroclorato de dopexamina e endotélio*

Em 1980, Furchgott e Zawadzki publicaram, no periódico *Nature*, relato de que as células endoteliais desempenhavam papel obrigatório no relaxamento da musculatura lisa. Através da exposição de

anéis de aorta torácica de coelhos à acetilcolina (ACh), na presença e na ausência de endotélio, puderam observar que a ACh interagia com as células endoteliais, liberando um fator relaxante (FURCHGOTT, ZAWADZKI, 1980).

O entendimento do papel fisiológico e fisiopatológico do endotélio cresceu de forma importante nos últimos anos, tornando-o um dos órgãos mais importantes dentro do organismo. O endotélio funciona como sensor e transdutor de sinais que ocorrem na intimidade da parede vascular. O espectro de sinais, que ativam as células endoteliais, varia desde forças mecânicas (fluxo e pressão) a substâncias vaso-ativas e mediadores inflamatórios. Além dessa capacidade perceptiva, o endotélio desempenha ativamente diversas propriedades fisiológicas. As células endoteliais regulam tônus vascular, hemostasia, inflamação, metabolismo lipídico, crescimento e migração celular e interações com a matriz extracelular, através de muitos mecanismos receptor-mediados (GIBBONS, DZAU, 1994).

Nota-se claramente que estados de disfunção endotelial têm íntima relação com várias condições patológicas, tais como sepse, aterosclerose, hipertensão arterial sistêmica etc. É de fundamental importância ter a noção de que as várias substâncias, liberadas pelo endotélio, procuram modular o tônus vascular e a perfusão dos tecidos.

Neste contexto, se procura correlacionar as propriedades vaso-dilatadoras da dopexamina com a integridade funcional do endotélio vascular. Quando se intenciona gerar maior aporte sanguíneo a um dado órgão, deve-se considerar a interação droga vaso-ativa e endotélio. Vaso-relaxamento reduzido a vaso-dilatadores endotélio-dependentes, além de ser

um marcador de disfunção endotelial (LEFER, XIN-LIANG, 1993), é um importante aspecto a ser considerado no momento terapêutico. Drogas que mantivessem sua atividade, a despeito da função endotelial, poderiam manter-se atuantes nesses estados.

Outro aspecto a ser considerado é a existência de fatores derivados do endotélio, que produzem vaso-relaxamento. Os principais são o óxido nítrico, a prostaciclina e o fator hiperpolarizante (BRAYDEN *et al*, 1991). Assim como a acetilcolina libera tais mediadores, levantou-se o questionamento se a dopexamina não poderia interagir de alguma forma com esses mediadores.

Conclui-se, portanto, que na vigência de estados de baixo fluxo, onde ocorre vaso-constricção da artéria mesentérica (REILLY, BULKLEY, 1993), ou na pan-endotelite do choque séptico, que possivelmente também proporciona diminuição absoluta ou relativa da perfusão mesentérica (GHOSH *et al*, 1993), deve-se utilizar uma droga que privilegie fluxo esplâncnico sem perder suas propriedades vaso-relaxantes na vigência de disfunção endotelial.

◆ *Hidroclorato de dopexamina e óxido nítrico*

A participação do óxido nítrico em dezenas de processos fisiológicos e fisiopatológicos e em interações farmacológicas despertou o interesse pelo estudo de uma possível ligação do poder vaso-relaxante da dopexamina com a via da L-arginina.

O relaxamento do músculo liso dos vasos é obtido a partir da formação do monofosfato de guanosina cíclico (GMPc). O GMPc pode ser formado a partir de mecanismos diferentes, como, por exemplo, a ação vaso-dilatadora da prostaciclina. Estudos mostram que outro fator endógeno, derivado das células endoteliais, conhecido como o *Endothelium-derived relaxing factor* (EDRF), também proporciona um grande relaxamento aos músculos lisos. Acetilcolina, bradicinina, adenosina trifosfato e outros vaso-dilatadores agem sobre receptores na superfície endotelial para liberar localmente hormônios, que se difundem para o músculo liso adjacente, provocando relaxamento. Estes estímulos perdem sua atividade vaso-dilatadora quando não existe endotélio. Um dos hormônios produzidos neste processo é o fator de relaxamento derivado do endotélio, que foi definitivamente identificado ou como sendo o óxido nítrico ou algum derivado que o libera. O óxido nítrico relaxa a musculatura lisa por ativar a guanilato ciclase e por estimular a formação do monofosfato de guanosina cíclica (GMPc). (GIBALDI, 1993; IGNARRO *et al*, 1987; PALMER, FERRIGE, MONCADA, 1987; FURCHGOTT, 1988).

A via de formação do óxido nítrico já está bem estabelecida (PALMER *et al*, 1987; IGNARRO *et al*, 1987). O óxido nítrico é um composto gasoso, derivado da L-arginina sob ação da óxido nítrico sintetase. Existem dois subtipos de isoenzimas: a óxido nítrico sintetase constitucional, presente na maioria dos tecidos (para revisão ver MONCADA *et al*, 1991) e a óxido nítrico sintetase induzida, que é fundamentalmente originada de processos inflamatórios.

Incubação de células endoteliais, com endotoxinas bacterianas, induzem a expressão da óxido nítrico sintetase (NO synthase) e leva a um

aumento da morte celular - citotoxicidade esta que foi inibida pela L-NMMA (falso substrato para o óxido nítrico). Investigadores concluem que: " o endotélio vascular libera óxido nítrico constitutivamente para as ações fisiológicas e também expressa NO como parte dos mecanismos de defesa do hospedeiro, exemplificando os diversos papéis do NO como uma molécula biologicamente ativa" (PALMER *et al*, 1992).

Assim como a endotoxina induz a expressão da óxido-nítrico sintetase, aumentando a liberação de óxido nítrico, as citocinas também promovem essa condição. Nesse contexto, existe dessensibilização da guanilato ciclase, atenuando as respostas vaso-dilatadoras a compostos que utilizam GMPc como segundo mensageiro, para induzir vaso-relaxamento. Isto foi comprovado em estudo experimental *in vitro*, utilizando anéis de artéria mesentérica previamente incubados com Interferon- γ (que induz a liberação de óxido nítrico), e avaliando a produção de GMPc, bem como a resposta vaso-dilatadora induzida pelo nitroprussiato de sódio. Observaram os autores este fenômeno de dessensibilização da guanilato ciclase, quando exposta a níveis maiores de óxido nítrico, liberados pela exposição ao interferon- γ e, por conseguinte, diminuição da resposta vaso-dilatadora do nitroprussiato (KIMPE *et al*, 1994).

Também merece destaque o papel do óxido nítrico na manutenção da integridade vascular no dano intestinal, induzido por endotoxina. Este estudo experimental sugere que a síntese de óxido nítrico, a partir da L-arginina, têm um papel importante na integridade micro-vascular da mucosa intestinal. Em contrapartida, quando utilizavam inibidor seletivo do óxido nítrico, o dano se intensificava a partir da injúria com lipopolissacarídeos (HUTCHESON, WHITTLE, BOUGHTON-SMITH, 1990).

Por fim, destaca-se a participação do óxido nítrico na injúria de reperfusão no intestino e como mediador de alterações hemodinâmicas na sepse. No primeiro evento, o óxido nítrico endógeno é importante na limitação da injúria após reperfusão do intestino isquêmico. Esta afirmação é baseada na observação que L-NAME, um potente inibidor da síntese de óxido nítrico, exacerba a injúria intestinal associada com reperfusão (KUBES, 1993). No segundo evento, existem fortes evidências que a via da L-arginina participa em várias alterações hemodinâmicas na sepse. Lorente *et al*, através de um estudo intervencionista, analisaram as respostas hemodinâmicas em 15 pacientes sépticos, após a infusão em bolus de N^w-nitro-L-arginina (inibidor de óxido nítrico) seguido da infusão de L-arginina. Observaram os autores, que a pressão arterial e a resistência vascular sistêmica e pulmonar aumentaram após infusão do inibidor de óxido nítrico, enquanto que voltaram a cair após infusão da L-arginina (LORENTE *et al*, 1993). Outra evidência da participação do óxido nítrico na sepse, foi a constatação de que o TNF α (fator de necrose tumoral α) estimula as células endoteliais a produzirem óxido nítrico (LAMAS *et al*, 1991).

Desta forma, procurou-se verificar se a dopexamina liberaria óxido nítrico na artéria mesentérica, interagindo no seu processo vasodilatador, e por conseguinte, "ofereceria" aos tecidos quantidade complementar desta molécula biologicamente ativa. Por outro lado, uma ação independente de óxido nítrico poderia garantir sua ação vasodilatadora em situações de inibição da síntese de óxido nítrico ou de dessensibilização da guanilato ciclase.

◆ *Hidrocloreto de dopexamina e canais iônicos de potássio*

Vaso-dilatação pode ser consequência de uma variedade de substâncias, que não se relacionam na estrutura ou na origem. Entre estas estão incluídas agentes sintéticos, tais como cromakalima, pinacidil e diazóxido, bem como substâncias endógenas, como por exemplo, acetilcolina, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), polipeptídeo vaso-ativo intestinal (VIP) e fatores endoteliais (EDRF, fator hiperpolarizante derivado do endotélio e prostaciclina). Um efeito que essas substâncias têm em comum é a habilidade de hiperpolarizar as células da musculatura lisa vascular. Hiperpolarização da membrana, por sua vez, fecha os canais de cálcio voltagem-dependentes e, por conseguinte, provoca vaso-dilatação (NELSON *et al*, 1988). Há forte evidência que a ação hiperpolarizante destas substâncias resulta de uma condutância aumentada da membrana celular aos íons potássio (COOK, 1988). Vários tipos de canais de potássio têm sido identificados na musculatura lisa vascular e são responsáveis por hiperpolarização e vaso-dilatação.

Dentre os diversos canais de potássio, os ATP-dependentes e os cálcio-dependentes são os mais estudados na musculatura lisa. Em recente revisão sobre o tema, foi estabelecido que os canais de potássio ATP-dependentes seriam a via primária para a interação de várias substâncias vaso-dilatadoras (BRAYDEN *et al*, 1991). A característica primordial destes canais iônicos é sua inibição pelo ATP, bem como por sulfoniluréias (glibenclamida e tolbutamida) e baixas concentrações de Ba^{2+} . Através destas propriedades foi possível caracterizar a participação destes canais nas propriedades vaso-dilatadoras de vários compostos.

Vários estudos examinaram os efeitos de compostos que abrem os canais de potássio sobre feixes vasculares isolados e têm demonstrado que a ação vaso-dilatadora é inibida pela glibenclamida (QUAST, COOK, 1989; WINQUIST *et al*, 1989), o que reforça a participação dos canais de K⁺ ATP-dependentes.

Os canais de potássio cálcio-dependentes, até pouco tempo, não eram incluídos como partícipes da regulação do tônus vascular. Em recente publicação, Brayden e Nelson demonstraram o papel desses canais na regulação do tônus arterial (miogênico) em células da musculatura lisa da artéria cerebral de coelhos. Concluíram que os principais canais de potássio cálcio-dependentes, envolvidos neste mecanismo fisiológico, são os de grande condutância, embora possa haver participação dos de pequena condutância (BRAYDEN, NELSON, 1992).

Procurou-se desta forma caracterizar a participação dos canais de potássio ATP e cálcio dependentes (pequena condutância) na ação vaso-dilatadora da dopexamina sobre a artéria mesentérica. É de conhecimento atual, que os canais de potássio ATP-dependentes são os mais importantes e são eles que interagem com a maioria dos compostos vaso-dilatadores exógenos; no entanto, se optou também por analisar os cálcio-dependentes.

◆ *Fundamentos teóricos*

Com todos estes aspectos colocados, procurou-se fundamentar a pesquisa e estabelecer metas e objetivos. Quando se envolvem duas grandes áreas da medicina, Farmacologia e Terapia Intensiva, deve-se buscar mais precisamente respostas a estes questionamentos. Investiga-se uma droga, muito pouco explorada na perspectiva de privilegiar fluxo ao território esplâncnico, no intuito de estabelecer, futuramente, seu papel no contexto clínico dos diversos distúrbios perfusionais citados. Procurou-se caracterizar seu perfil farmacológico, correlacionando principalmente áreas e mecanismos fundamentais na interação droga/artéria mesentérica, isto é, receptores de membrana, endotélio, via do óxido nítrico, poder vaso-relaxante comparativo e canais de potássio. Todos estes pontos têm profundo interesse clínico, quando se vislumbra a utilização de uma droga, não num modelo experimental isolado, mas numa situação de *stress* fisiológico, como o choque.

O objetivo prático que pretende demonstrar esta dissertação é o de poder direcionar com mais propriedade a terapêutica dos distúrbios perfusionais, invariavelmente presentes em pacientes gravemente enfermos, através do entendimento mais adequado dos efeitos de uma droga, que possibilita direcionamento de fluxo sanguíneo para um órgão vital, na ressuscitação de tais pacientes.

É mistér que nossas propriedades cognitivas estejam voltadas para a amplitude do problema e de todas as condições passíveis de serem modificadas, em direção ao sucesso terapêutico. A inquietude científica deve sempre questionar e tentar avançar decisivamente sobre o abismo epistemológico, mesmo que este seja um artifício de expressão filosófica.

MATERIAL E MÉTODOS

V - MATERIAL E MÉTODOS

Um grupo de coelhos da raça Nova Zelândia (n=22), com idade entre 4 e 7 meses, mantidos no Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina, em ambiente com luz natural, alimentação à base de ração, supervisionados por médico veterinário e criados especificamente para pesquisas, serviu como material para o presente estudo. Estes coelhos foram sacrificados e submetidos a exérese da artéria mesentérica superior para posterior preparação de anéis, que serviram para estudo experimental *in vitro*.

O estudo desenvolveu-se no Laboratório da Coordenadoria Especial de Farmacologia, do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Santa Catarina, respeitando as normas éticas para estudos experimentais, exigidas pelo mesmo (Anexo1). Esta Coordenadoria conta com um Curso de Pós-graduação em Farmacologia, cujos pesquisadores, iniciantes ou em formação, têm contínua supervisão dos doutores que integram o corpo docente.

Preparação de Anéis de Artéria Mesentérica Superior (AMS)

Coelhos Nova Zelândia de ambos os sexos foram sacrificados, através de injeção intracardíaca de ar (20 - 40 ml). A seguir, foram submetidos a laparotomia e a artéria mesentérica superior localizada, isolada de tecidos adjacentes e retirada, desde a sua origem até sua primeira ramificação (Figura 1). Anéis de 2 a 3 mm de comprimento, 4 preparações por animal, foram preparados, através da secção transversal



Figura 1 - Laparotomia para realização da exérese da artéria mesentérica superior. Visualiza-se a aorta, deslocamento superior do estômago e lateral do intestino delgado.

do vaso, e montados, conforme descrição abaixo, para registro isométrico em polígrafo Narcotrace 40 - NarcoBiosystems (Figura 2). As preparações foram conectadas a hastes de platina, ligadas a um suporte, e introduzidas em uma cuba para órgãos isolados, contendo solução nutriente de Krebs-Henseleit [composição (mM) : NaCl 118,0, KCl 4,4, MgSO₄ 1,1, CaCl₂ 2,5, NaHCO₃ 25,0, KH₂PO₄ 1,2 e glicose 11,0] mantida a 37°C, pH 7,2 a 7,4, arejada com oxigênio a 95% e CO₂ 5% (Figuras 3 e 4). As preparações foram submetidas a uma tensão basal de 1 grama.

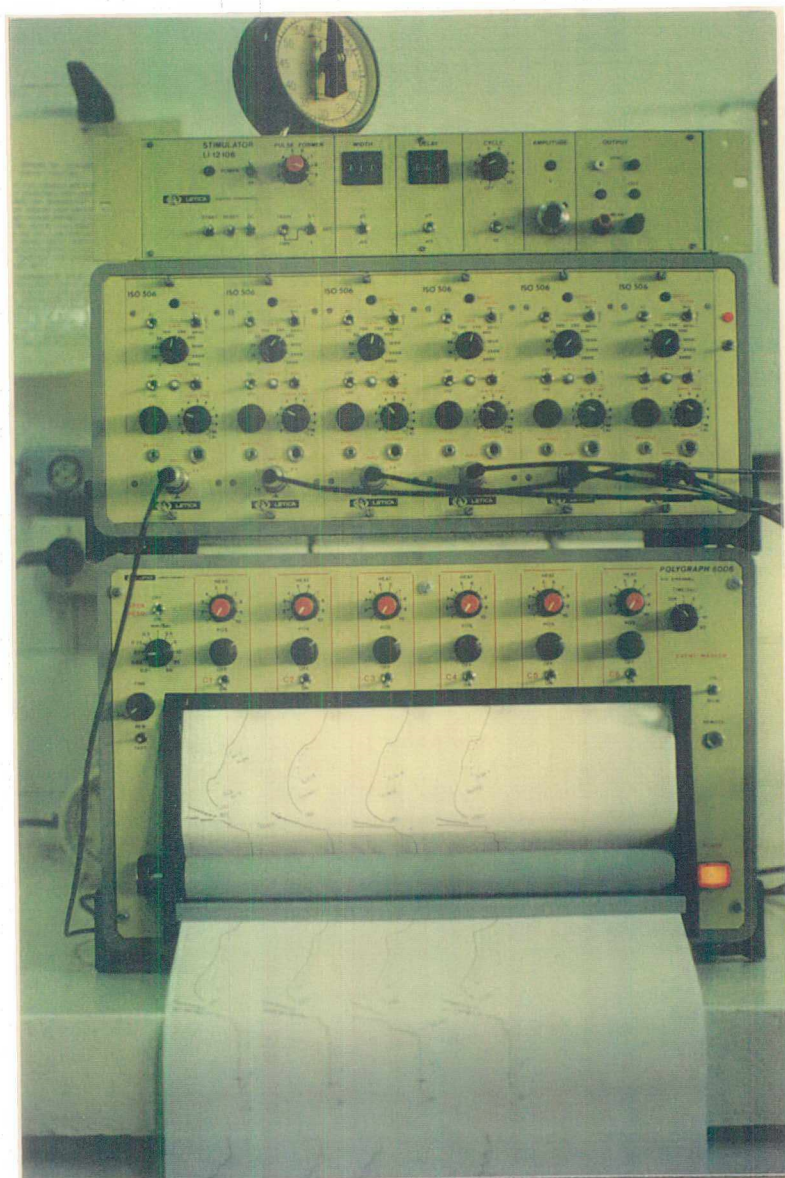


Figura 2 - Polígrafo Narcotrace 40 - NarcoBiosystems.

Teste do Endotélio

A presença do endotélio vascular foi confirmada através do teste descrito por Furchgott e Zawadzki, em 1980 (FURCHGOTT, ZAWADZKI, 1980). Brevemente, um tônus vascular foi induzido com fenilefrina (0,1 a 0,3 μM) e após estabilização das contrações, acetilcolina foi adicionada. Uma resposta relaxante da acetilcolina, maior ou igual a 50% do tônus induzido pela fenilefrina, foi considerada comprobatória da presença do endotélio vascular.

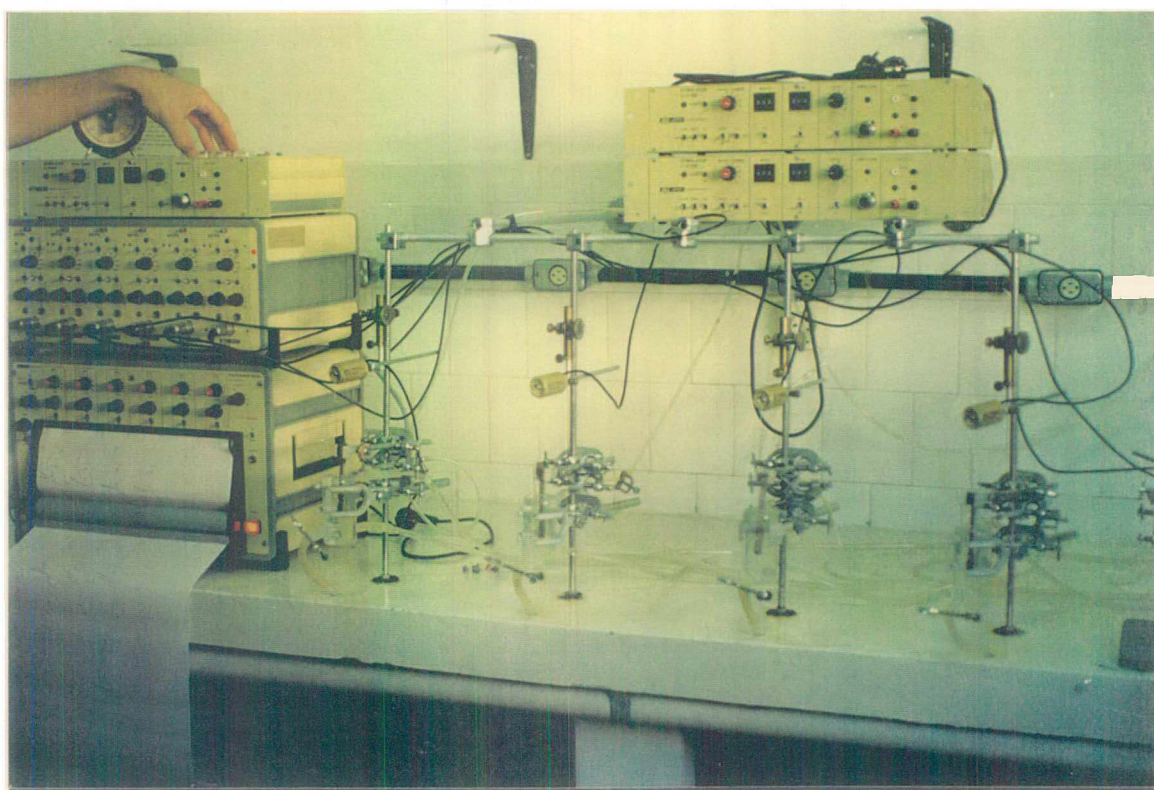


Figura 3 - Visão panorâmica das cubas para órgãos isolados conectadas aos seus respectivos transdutores e estes ao polígrafo Narco Trace 40.

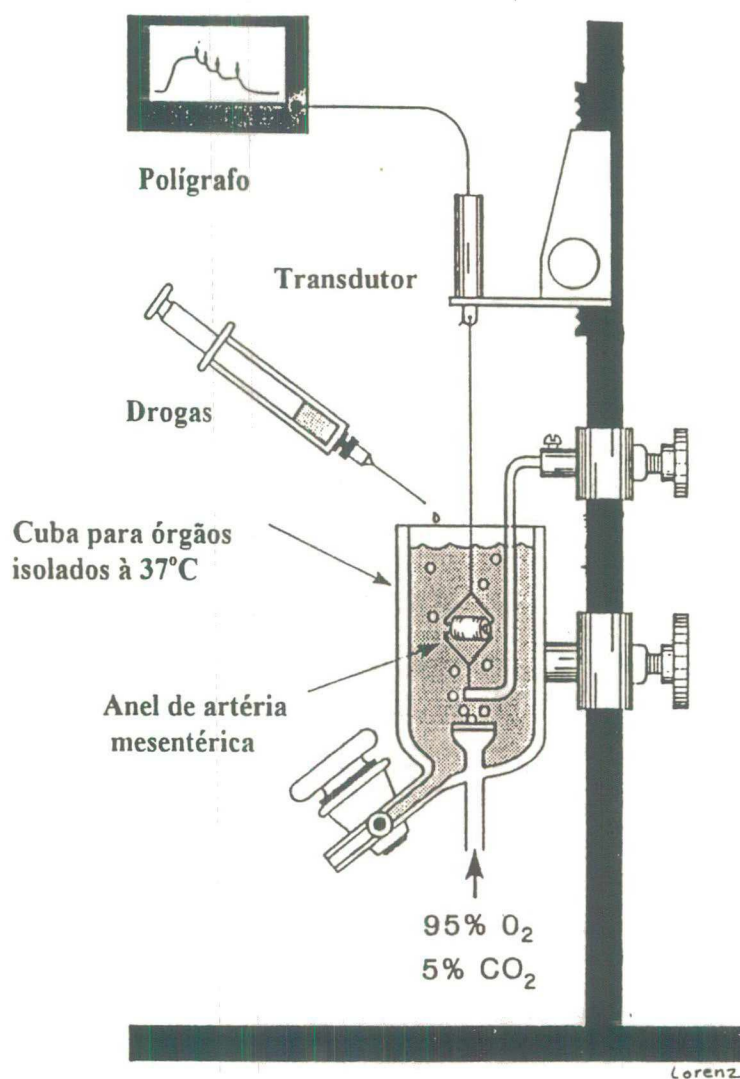


Figura 4 - Representação esquemática do sistema utilizado para o estudo farmacológico de anéis de artéria mesentérica isolados [adaptado da tese de livre docência “*Alguns aspectos farmacológicos da função endotelial em cirurgia cardíaca*” - (EVORA, 1992)].

Preparação da dopexamina

O sal foi mantido sob proteção da luz e alíquotas eram preparadas, respeitando as normas prescritas pelo fabricante. Essas normas consistiam em cuidados na diluição. O líquido diluente deveria ser solução salina 0,9%, com pH de aproximadamente 2,5 (ajustado com ácido hidrocloreídrico), ao qual se acrescentaria ácido ascórbico. Todos os passos foram obedecidos e estas alíquotas eram mantidas sob refrigeração e protegidas da luz para posterior uso (Anexo II).

Teste do tônus vascular com dopexamina

Decorrido o período de equilíbrio (1 hora), cada preparação foi submetida à ação despolarizante rica em potássio (obtida a partir da substituição equimolar de 74,4 mM de sódio por potássio da solução de Krebs-Henseleit), a fim de avaliar a resposta contraturante máxima de cada preparação. O líquido nutriente foi então trocado várias vezes e, após 60 minutos, um tônus adicional (70 a 80% da resposta contraturante máxima de cada anel de AMS) foi induzido através da adição de fenilefrina em doses cumulativas (a partir de 10^{-9} até atingir o tônus desejado). Após obtenção de respostas estáveis, curvas cumulativas concentração-resposta foram realizadas para dopexamina (1 a 10.000 nM). Os resultados foram expressos em porcentagem de relaxamento.

Anéis desprovidos de endotélio

Quatro anéis foram preparados sem endotélio, através da lesão destas células por intermédio de haste com algodão, friccionada por dentro de cada anel. Estes anéis foram submetidos ao teste do endotélio para comprovar a destruição endotelial, isto é, ao contrário do teste descrito anteriormente, a acetilcolina promoveu vaso-constricção adicional ou não induziu a vaso-dilatação esperada. Foram então submetidos a um tônus com fenilefrina, conforme descrição anterior, e novas curvas cumulativas concentração-resposta foram realizadas para dopexamina.

Análise da via do óxido nítrico (NO)

Seis outros anéis de artéria mesentérica superior foram preparados para avaliar a participação da via do óxido nítrico, sempre contendo em cada experimento um controle positivo (curva com acetilcolina + L-NOARG). Previamente à realização das curvas cumulativas concentração-resposta para dopexamina, foram incubados com NW-nitro-L-arginina (L-NOARG) 10^{-4} M, por 20 minutos (inibidores seletivos e competitivos da síntese de NO). Foram então comparados com anéis desprovidos do inibidor, quanto às possíveis alterações no poder vaso-relaxante da dopexamina em relação à inibição do óxido nítrico pela incubação com seu falso substrato.

Análise da participação dos canais de potássio

Previamente à curva dose-resposta com a dopexamina (n=4), incubou-se, por 20 minutos, glibenclamida numa concentração de 10^{-6} M, a fim de se avaliar a participação dos canais de potássio ATP-dependentes. Com a finalidade de estudar a participação dos canais de potássio cálcio-dependentes, incubou-se, por 10 minutos (n=4), apamina, numa concentração de 3×10^{-7} M.

Participação dos receptores adrenérgicos β_2

Em quatro outros anéis, foram realizadas curvas dose-resposta com a dopexamina em cubas previamente incubadas com propranolol 10^{-6} M, por 25 minutos. Em cada experimento havia uma cuba sem propranolol, que servia como controle.

Participação dos receptores dopaminérgicos

Foram realizadas 4 curvas dose-resposta com a dopexamina em cubas previamente incubadas com haloperidol, (inibidor não seletivo de receptores dopaminérgicos), em concentração de 3×10^{-7} M, por 20 minutos. Em cada experimento havia uma cuba sem haloperidol, que servia como controle.

Curvas com dopamina, dobutamina e nitroprussiato de sódio

Foram realizadas curvas dose-resposta ($n = 4$) para cada uma destas drogas, iniciando sempre com uma concentração de 10^{-11} M, até obtenção de relaxamento próximo a 100%, quando possível. Estas curvas foram comparadas com a curva de dopexamina.

Tratamento estatístico

Os resultados foram expressos em médias e erros padrão das médias. A significância das diferenças entre as médias de relaxamento (%) foram testadas com o teste *t* de Student para amostras pareadas e não pareadas (Wilcoxon). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Utilizou-se o Microsoft Excel 4.0[®] para realizar média, desvio-padrão, erro-padrão e teste *t* de Student; e, para os gráficos, o software FIG[®].

RESULTADOS

VI - RESULTADOS

O estudo experimental *in vitro*, procurando caracterizar as respostas funcionais ao hidrocloreto de dopexamina sobre a artéria mesentérica superior isolada de coelhos, revelou várias facetas da droga que serão pormenorizadas nos vários sub-ítem a seguir.

5.1. *Propriedades vasomotoras*

O hidrocloreto de dopexamina mostrou atividade vaso-dilatadora sobre a artéria mesentérica superior de coelhos. Nas diversas curvas cumulativas dose-resposta (n=6), observou-se que, a partir de um tônus médio de 3,6g, induzido com fenilefrina, a dopexamina inicia sua atividade vaso-dilatadora com uma concentração de 10^{-6} M e proporciona vaso-dilatação importante, em média de 92,7%, com uma concentração de 10^{-5} M. Esta ação foi comparada com curvas dose-resposta da acetilcolina. A acetilcolina, através de endotélio íntegro, mostrou uma ação vaso-dilatadora mais potente. Numa concentração média de 10^{-6} M a ação vaso-dilatadora foi em média de 87,7%. Calculando a DE_{50} ¹ das duas curvas, observou-se que a dopexamina atinge sua atividade média numa concentração de $5,1 \times 10^{-6}$ M, enquanto que, para acetilcolina, esta foi de $1,1 \times 10^{-8}$ M (p < 0,01) (Figura 1).

¹ Dose efetiva 50%; refere-se a dose responsável por 50% do efeito máximo.

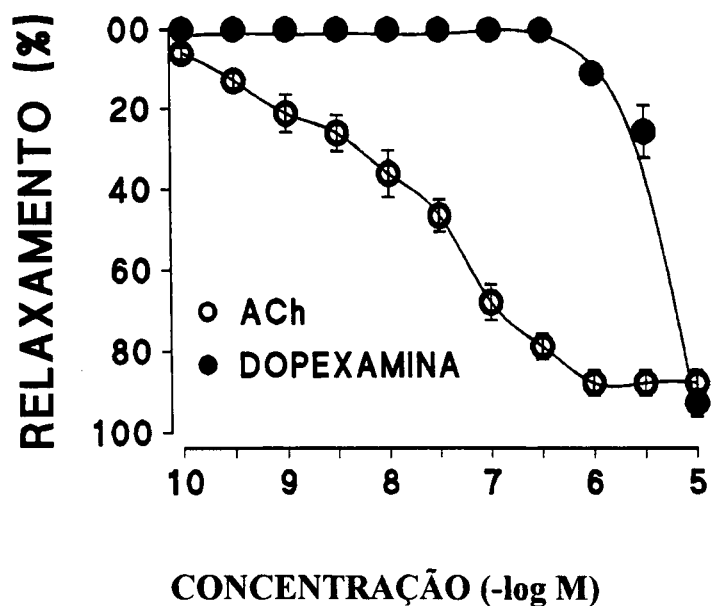


FIGURA 1- Curvas dose resposta obtidas para acetilcolina e dopexamina em anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos. Cada ponto representa a média de 6 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

A curva de vaso-dilatação induzida pela dopexamina é típica de uma droga com ação predominante sobre musculatura lisa (Figura 2), pois revela a necessidade de preencher a maioria dos receptores para só então iniciar sua ação.



FIGURA 2 - Registro típico, mostrando o efeito relaxante causado pela dopexamina em anel de artéria mesentérica superior isolada de coelhos, com tônus induzido com fenilefrina.

Esta resposta vaso-dilatadora da dopexamina foi caracterizada como sendo conseqüente à ação da droga, de forma agonista, sobre os receptores dopaminérgicos e β_2 -adrenérgicos. Para demonstrar esta interação farmacológica, foram realizadas 2 curvas dose-resposta com a dopexamina, sendo que uma foi o resultado de 4 anéis incubados previamente com propranolol 10^{-6} M por 25 minutos, e a segunda, de 4 anéis incubados previamente com haloperidol 3×10^{-7} M por 20 minutos. Observou-se que o propranolol (antagonista dos receptores β -adrenérgicos) proporcionou um pequeno deslocamento da curva para a direita (Figura 3), enquanto que o haloperidol (antagonista dos receptores dopaminérgicos) deslocou a curva também para a direita, porém de forma mais acentuada (Figura 4). A DE_{50} da dopexamina foi $5,1 \times 10^{-6}$ M e as DE_{50} , nas cubas com propranolol e haloperidol, foram de $9,7 \times 10^{-6}$ e $1,7 \times 10^{-5}$ M ($p < 0,01$), respectivamente.

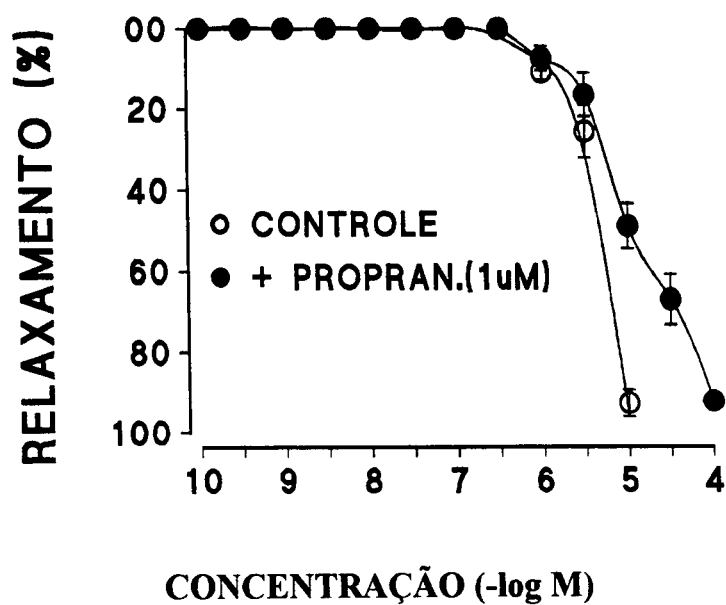


FIGURA 3 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina (controle) e nas preparações previamente incubadas com propranolol 10^{-6} M, em anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos. Cada ponto representa a média de 4 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

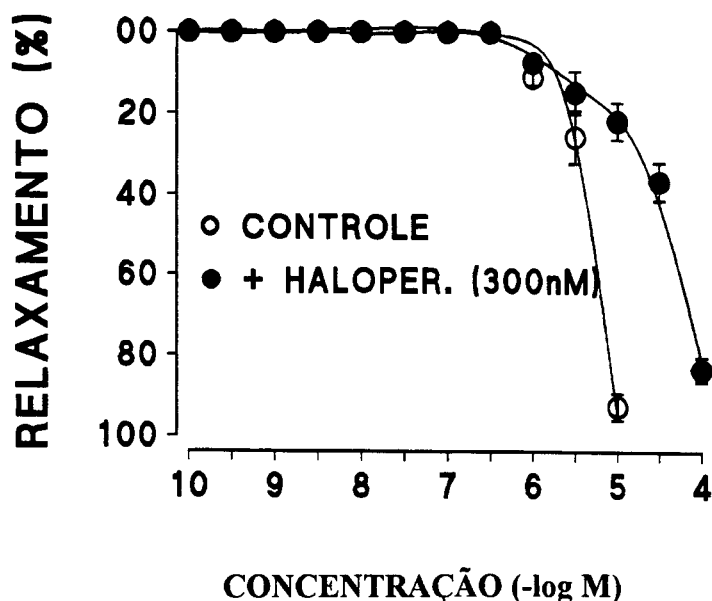


FIGURA 4 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina (controle) e nas preparações previamente incubadas com haloperidol 3×10^{-7} M, em anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos. Cada ponto representa a média de 4 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

5.2 Participação do endotélio vascular sobre a ação vaso-dilatadora da dopexamina

A fim de se avaliar a participação do endotélio vascular na ação vaso-dilatadora da dopexamina, foram realizadas curvas dose-resposta comparativas com dopexamina, na presença (controle) e na ausência do endotélio. Cada grupo consistia de 4 anéis. As curvas resultantes, com as médias e erros-padrão das médias, são ilustradas na figura 5. Observou-se claramente que não houve diferença entre as mesmas, sendo inclusive impossível de diferenciar as DE_{50} .

A figura 6 ilustra o teste do endotélio negativo, corroborando a ausência do endotélio.

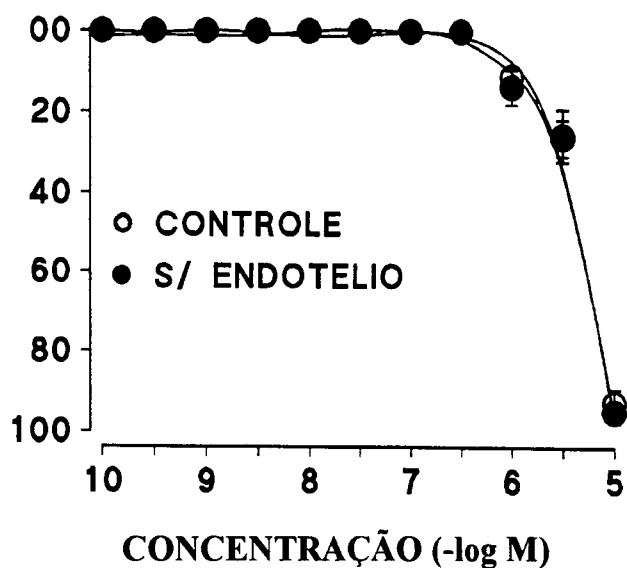


FIGURA 5 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina, na presença e na ausência de endotélio vascular, em anéis de artéria mesentérica superior de coelhos. Cada ponto representa a média de 4 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

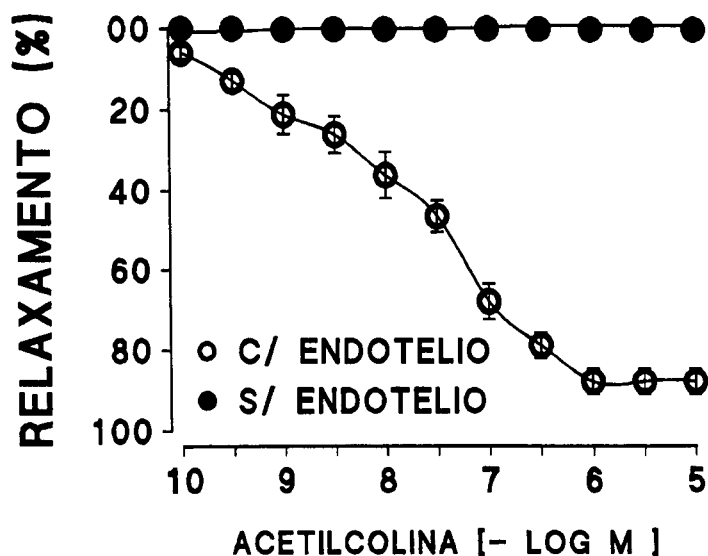


FIGURA 6 - Registro das curvas de vaso-relaxamento para acetilcolina na presença e na ausência do endotélio vascular (Teste do endotélio negativo).

5.3 Participação da via do óxido nítrico sobre a ação vaso-dilatadora da dopexamina

A participação da via do óxido nítrico foi avaliada através da realização de curvas dose-resposta ($n=6$) com o hidrocloreto de dopexamina, na presença e na ausência de inibidor (falso substrato) do óxido nítrico (L-NOARG). Observou-se que, após incubação com L-NOARG, não houve alteração da DE_{50} em relação ao controle. Portanto não houve deslocamento da curva com L-NOARG em relação ao controle (Figura 7), mostrando que dopexamina atua na artéria mesentérica superior de coelhos, promovendo vaso-dilatação sem liberar óxido nítrico ou mesmo interagir com a via da L-arginina.

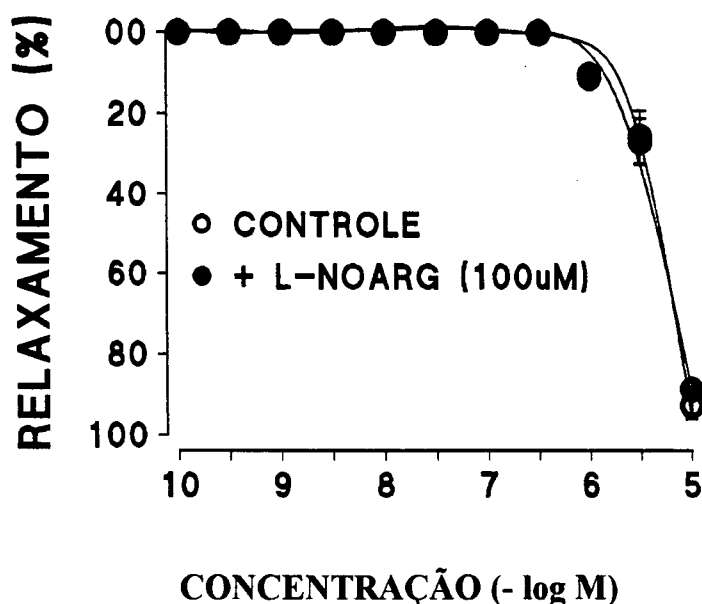


FIGURA 7 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina (controle) e em preparações previamente incubadas com L-NOARG 10^{-4} M, em anéis de artéria mesentérica superior de coelhos. Cada ponto representa a média de 6 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

5.4 Participação dos canais iônicos de potássio ATP-dependentes e cálcio dependentes

Da mesma forma, foram realizadas curvas dose-resposta com o hidrocloreto de dopexamina na presença de glibenclamida ($n = 4$) e apamina ($n = 4$) e comparadas com controle. Observou-se, igualmente, não haver diferença entre as DE_{50} , bem como ausência de deslocamento das curvas com os inibidores, comparativamente ao controle (figura 8).

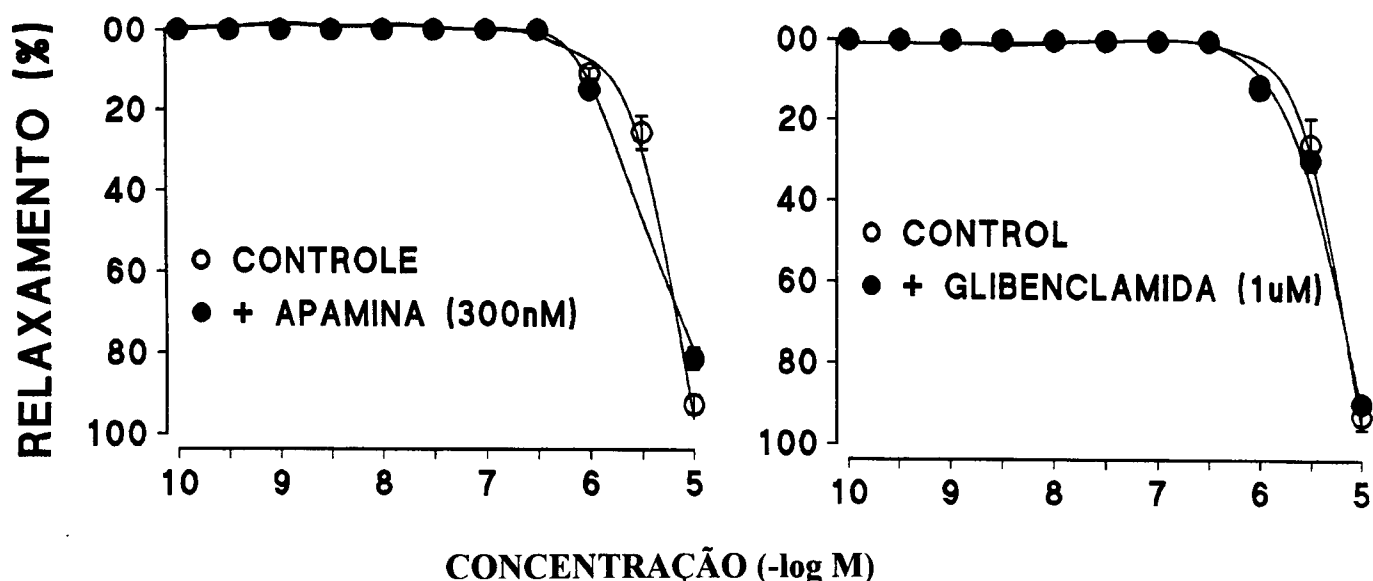


FIGURA 8 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina (controle), e em preparações previamente incubadas com apamina ($n = 4$) e glibenclamide ($n = 4$), em anéis de artéria mesentérica superior. Cada ponto representa a média de 4 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

5.5 Curva de vaso-relaxamento induzida por doses crescentes de dopamina

Procurou-se caracterizar o efeito da dopamina sobre anéis de artéria mesentérica superior, afim de se observar o padrão interativo com os vários receptores com que esta droga interage. Dados de literatura referem que a dopamina, em doses crescentes, tem afinidade por receptores dopaminérgicos (doses baixas), β_1 (doses médias) e α_1 -adrenérgicos (altas doses). Quando foram realizadas curvas ($n=3$) com dopamina, observou-se inicialmente vaso-relaxamento e, com doses maiores, vaso-constricção (Figura 10).

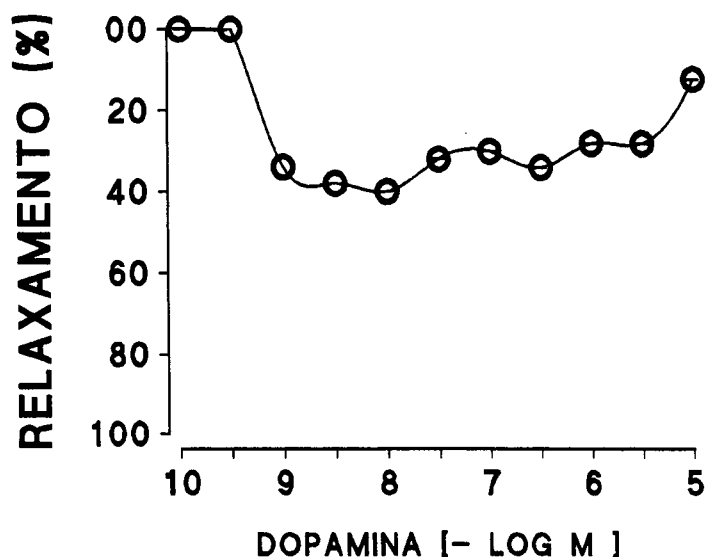


Figura 10 - Registro típico, mostrando o efeito relaxante causado pela dopamina em anel de artéria mesentérica superior isolada de coelhos, com tônus induzido com fenilefrina.

5.6 Comparação entre o efeito vaso-relaxante da dopexamina e da dobutamina

Foram realizadas curvas dose-resposta ($n=4$) com dobutamina e comparadas às da dopexamina, afim de se relacionar o poder vasodilatador sobre a artéria mesentérica, referente às duas drogas (Figura 11).

Observou-se um efeito semelhante entre as duas drogas, sendo que a DE_{50} da dobutamina foi de $1,06 \times 10^{-6}$ M, enquanto que a dopexamina foi de $5,1 \times 10^{-6}$ M ($p < 0,01$). No entanto, dobutamina apresentou maior poder vaso-relaxante com dose menores comparativamente à dopexamina (Gráfico 1).

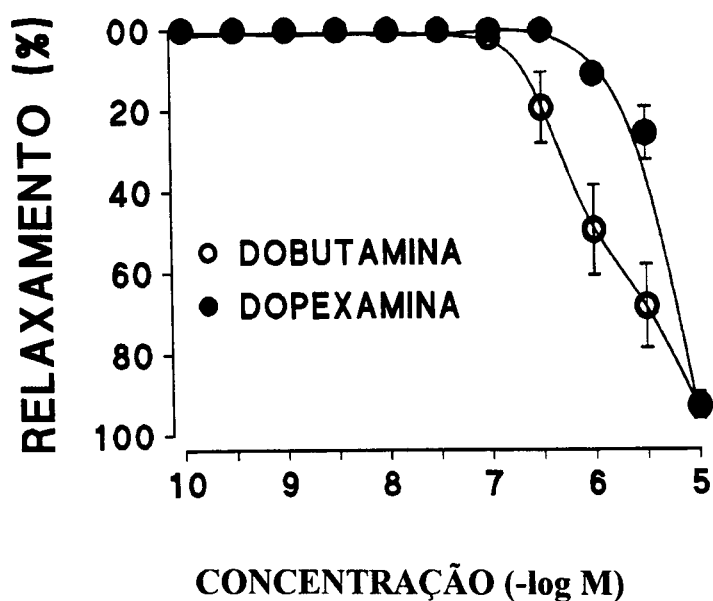


FIGURA 11 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina (controle) e dobutamina, em anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos. Cada ponto representa a média de 5-6 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

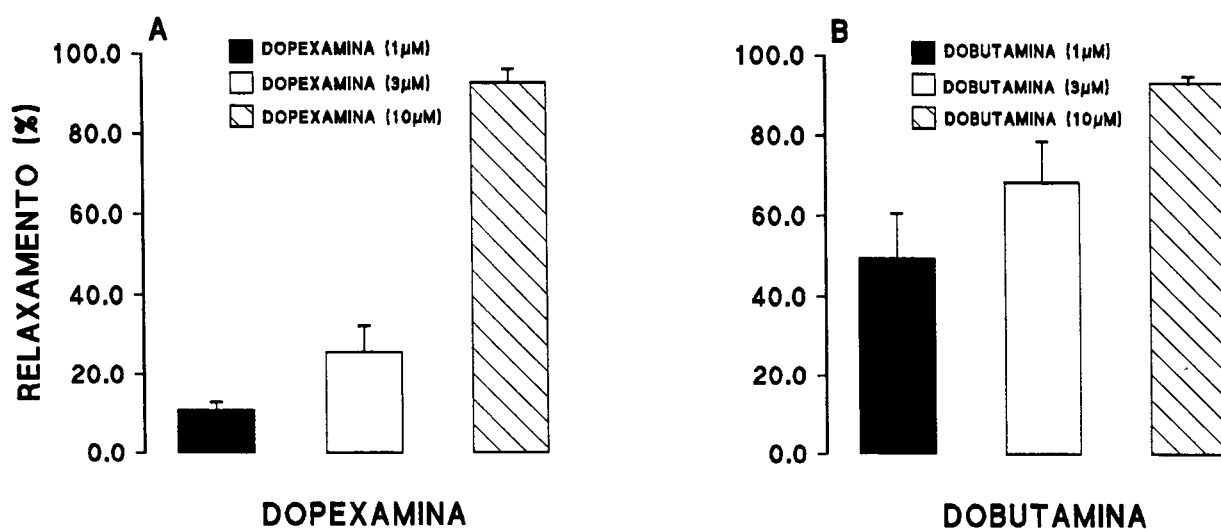


GRÁFICO 1 - Efeito vaso-relaxante comparativo entre dopexamina e dobutamina. As barras representam o percentual de vaso-relaxamento e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

5.7 Comparação entre o efeito vaso-relaxante da dopexamina e do nitroprussiato de sódio

De modo similar, foram realizadas curvas dose-resposta (n=4) com nitroprussiato de sódio e comparadas com controle (dopexamina) (Figura 12). Observou-se um efeito vaso-dilatador mais precoce do nitroprussiato (Gráfico 2) e a DE_{50} deste composto foi de $1,5 \times 10^{-7}$ M, enquanto que o controle foi de $5,1 \times 10^{-6}$ M ($p < 0,01$). A curva dose-resposta do nitroprussiato de sódio mostrou semelhança à da acetilcolina, inferindo-se mecanismo de ação análogo (liberação de óxido nítrico).

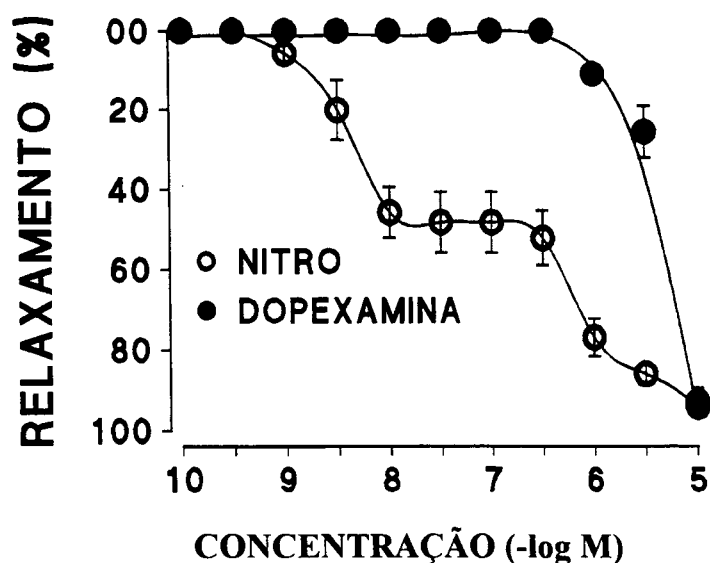


FIGURA 12 - Curvas dose-resposta obtidas para dopexamina (controle) e nitroprussiato de sódio, em anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos. Cada ponto representa a média de 4 anéis e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

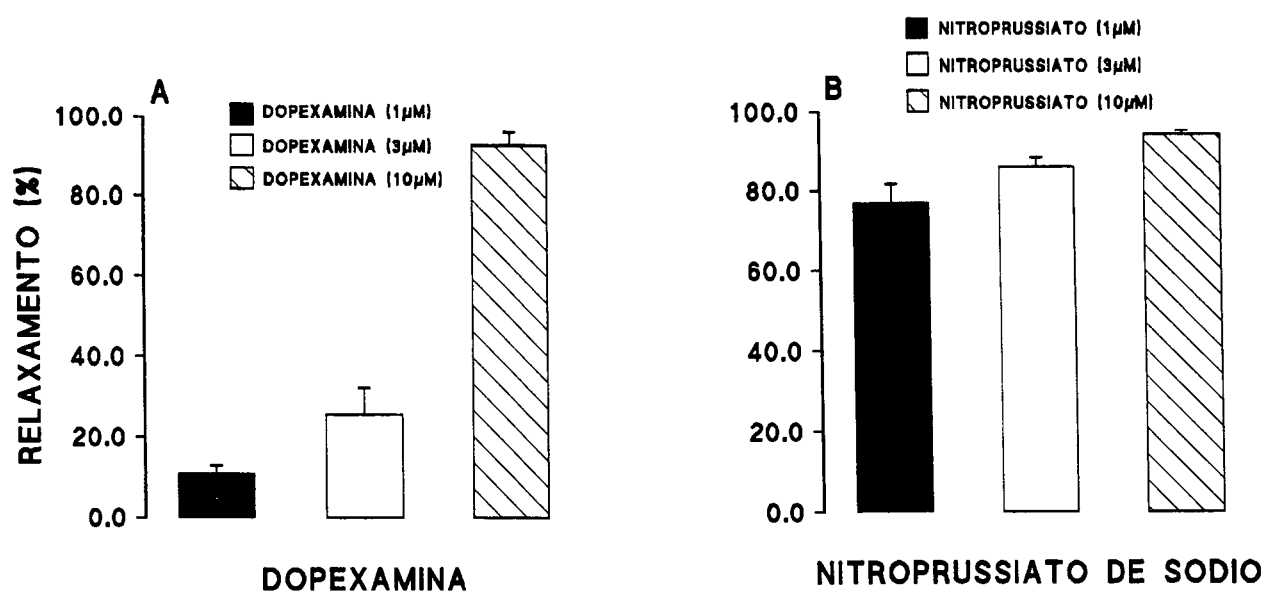


GRÁFICO 2 - Efeito vaso-relaxante comparativo entre dopexamina e nitroprussiato de sódio. As barras representam o percentual de vaso-relaxamento e as linhas verticais indicam os erros-padrão das médias.

DISCUSSÃO

VII - DISCUSSÃO

⇒ *Interação dos estudos experimentais e da prática clínica*

O presente estudo procurou demonstrar, mediante experimento *in vitro*, as características funcionais do hidróclorato de dopexamina sobre a artéria mesentérica superior e suas diversas interações farmacológicas. Teve ainda por objetivo estabelecer avaliações paralelas entres estes resultados e a prática clínica, assim como associações com modelos fisiopatológicos de distúrbios perfusionais, sobretudo quando a utilização de drogas vasoativas se faz necessária.

Drogas vasoativas são especialmente utilizadas em unidades de terapia intensiva. Os estudos concernentes à área caracterizam-se basicamente por duas peculiaridades: a primeira diz respeito à recente criação dessas unidades, inaugurando novo espaço dentro da medicina — razão pela qual esses estudos estão se sedimentando, criando forma e buscando embasamento científico de modo progressivo; a segunda peculiaridade é a de que estes centros abrigam pacientes, cujas características clínicas impedem muitos tipos de pesquisas, principalmente intervencionistas. A questão ética torna proibitiva tais práticas, face inclusive às condições de não aquiescência voluntária ou consentimento esclarecido. Essas peculiaridades explicam o crescente número de estudos

experimentais em animais (*in vivo* ou *in vitro*) na literatura médica correspondente.

A caracterização da propriedade vaso-dilatadora da dopexamina sobre a artéria mesentérica pode ter, como tradução clínica e terapêutica - PERFUSÃO MESENTÉRICA, em virtude da preocupação com oxigenação do trato gastrointestinal nos vários distúrbios perfusionais, existentes nos pacientes criticamente enfermos.

Ao se analisar a fisiopatologia da injúria da mucosa intestinal no choque, observa-se que o primeiro sinal é o aumento da permeabilidade vascular. Com a persistência da isquemia, esta permeabilidade aumenta e, mais tarde, lesão morfológicamente detectável fica evidente. O produto da extensão da isquemia e de sua duração determinará a profundidade da injúria tecidual (HAGLUND, 1992).

A vasculatura intestinal responde com vaso-constricção, mediada por angiotensina II e vasopressina nos estados de choque hipovolêmico e cardiogênico. Em modelos experimentais, inibidores da enzima conversora da angiotensina diminuem esta vaso-constricção. Na sepse, de início o fluxo é mantido, evoluindo posteriormente para isquemia.

Os mecanismos fisiopatológicos desta injúria podem ser assim sintetizados:

- *Injúria isquêmica*

1. Oferta de oxigênio diminuída

- Fluxo sanguíneo intestinal reduzido**
- Curto-circuito de oxigênio aumentado na vilosidade**

2. Demanda de oxigênio aumentada

- *Injúria de reperfusão*

1. Radicais livres de oxigênio

2. Disfunção de óxido nítrico

Em razão das características anatômicas da vascularização intestinal, principalmente na vilosidade (artéria central sem ramificar, mecanismo de contra-corrente), a oxigenação para as camadas superficiais é dependente de fluxo. Esta particularidade, associada ao fato da própria participação da isquemia mesentérica na síndrome de disfunção de múltiplos órgãos, é que se procura correlacionar aos achados deste estudo experimental com os prováveis benefícios clínicos, embora reconhecendo as suas próprias limitações (HAGLUND, 1992).

⇒ *Propriedades vaso-motoras do hidrocloreto de dopexamina*

A primeira característica observada, através deste estudo experimental *in vitro*, foi que o hidrocloreto de dopexamina promove vasodilatação da artéria mesentérica superior isolada de coelhos. Esta característica é salientada em algumas publicações (AMENTA *et al*, 1991; CAIN, CURTIS, 1991; KULKA, TRIBA, 1993; FITTON, BENFIELD, 1990). Este perfil farmacológico mereceu destaque, devido à constante relação entre isquemia mesentérica e estados de baixo fluxo ou alterações perfusionais secundárias aos quadros sépticos (FINK, 1991; HAGLUND, 1993; FINK, 1993; CHINTALA *et al*, 1993; SMITHIES *et al*, 1994).

Em contra-partida, a propriedade vaso-dilatadora da dopexamina sobre a artéria mesentérica ganhou pouca atenção na maioria dos estudos (BAUMANN *et al*, 1988; GOLDBERG, BASS, 1987; COLARDYN, VANDENBOGAERDE, 1988). Estes estudos direcionavam-se para as principais ações deste fármaco, isto é, diminuir resistência periférica e aumentar direta ou indiretamente débito cardíaco (BAUMANN *et al*, 1988; GOLDBERG, BASS, 1987; LANG *et al*, 1988; GOLLUB *et al*, 1988). Por conseguinte, a droga era freqüentemente testada em estados de baixo fluxo sistêmico, sobretudo secundários a insuficiência cardíaca grave ou pós-operatório de cirurgia de revascularização miocárdica.

O primeiro estudo clínico, no qual a dopexamina foi usada em pacientes após cirurgia cardíaca aberta, procurou demonstrar suas principais ações farmacológicas (HAKIM *et al*, 1988). Nele destacou-se que a dopexamina em doses crescentes (0,5 µg/kg/min a 3.0 µg/kg/min) aumentou significativamente o índice cardíaco e a freqüência cardíaca e

diminuiu a resistência vascular sistêmica (RVS). A pressão arterial não se reduziu, a despeito da queda da RVS. Houve tendência ao aumento da diurese.

Em outras publicações, a interação da dopexamina com fluxo renal e função tubular mereceram notoriedade. Dada a vital participação da função renal em estados críticos, esta propriedade mereceu destaque e análise profunda, principalmente no que se refere à ação sobre receptores dopaminérgicos (BASS, 1990).

Dopexamina promove vaso-dilatação da artéria renal por interagir com receptores DA₁. Isto resulta em aumento de fluxo sanguíneo para este órgão, em parte independente do aumento paralelo do débito cardíaco (MAGRINI *et al*, 1988). Neste estudo houve uma maior redução da resistência vascular renal quando comparada com a sistêmica; além disso, a redução na atividade da renina e a pequena diminuição da resistência vascular sistêmica sugerem fortemente a participação dos receptores DA₁, comparativamente aos receptores β_2 .

Em condições de disfunções orgânicas secundárias à sepse, dopexamina pode prevenir dano orgânico definitivo quando administrada precocemente, sobretudo pela associação dos efeitos vaso-dilatadores nos leitos renal e mesentérico (KULBA, TRIBA, 1993).

A literatura aponta vários estudos, nos quais os métodos utilizados, para avaliar as propriedades vaso-dilatadoras sobre a artéria mesentérica (AMENTA *et al*, 1991; CAIN, CURTIS, 1991; LUND *et al*, 1992), diferem do que foi empregado no presente trabalho. Amenta utilizou técnicas de *binding*, enquanto que Cain, Curtis e Lund, avaliaram a

dopexamina quanto a sua propriedade de melhorar fluxo mesentérico em modelos animais *in vivo*, submetidos à infusão de endotoxina. Não foi possível evidenciar, nesta revisão, uma metodologia utilizada semelhante a esta, a fim de se confrontar o poder vaso-relaxante da dopexamina sobre a artéria mesentérica, em relação às concentrações utilizadas e a DE₅₀. É importante considerar que se trata de metodologia simples, porém de grande valia para definir o perfil farmacológico deste composto, especificamente sobre a artéria mesentérica.

⇒ *Hidrocloreto de dopexamina e o endotélio vascular*

A interação da dopexamina com a artéria mesentérica inicialmente revelou seu poder vaso-relaxante. Desta constatação resultou uma segunda: a de que tal propriedade é absolutamente independente do endotélio. Esta última se fez a partir de dados comparativos entre as curvas dose-resposta na presença e na ausência do endotélio vascular da artéria mesentérica. Este dado abre a perspectiva de que, mesmo nos estados de grave disfunção endotelial (pan-endotelite), a droga pode manter sua ação vaso-dilatadora, privilegiando fluxo mesentérico. A pan-endotelite é uma alteração fisiopatológica, presente em pacientes sépticos ou severamente traumatizados (PARRILLO, 1993), e responde por grande parte do deficit perfusional. Especificamente na circulação esplâncnica, um grupo de citocinas (TNF, interleucina 1 e 2), presentes em estados sépticos ou nas injúrias de reperfusão, desempenha importante papel na disfunção endotelial, inibindo a ação dos fatores relaxantes do endotélio. TNF seletivamente diminui a habilidade dos anéis de artéria mesentérica de se relaxarem na presença de acetilcolina (liberando óxido nítrico) (LEFFER, XIN-LIANG, 1993). Gump *et al* (in TIGHE *et al*, 1993) demonstraram que,

em pacientes sépticos hipermetabólicos, o fluxo sanguíneo total, em relação ao esplâncnico, está significativamente aumentado quando comparado ao grupo controle, refletindo a isquemia mesentérica relativa e demonstrando que o consumo de oxigênio mesentérico é fluxo dependente (TIGHE *et al*, 1993). Trabalhos clínicos demonstram que a manutenção do fluxo esplâncnico pode desempenhar importante papel na interrupção do desenvolvimento da falência de múltiplos órgãos e sistemas (GUTIERREZ *et al*, 1992; DOGLIO *et al*, 1991). Neste contexto, fica evidente que uma droga que privilegia fluxo esplâncnico, a despeito da função endotelial, enseja grandes perspectivas no tratamento dos distúrbios perfusionais e da isquemia mesentérica.

A participação do $\text{TNF}\alpha$ na fisiopatologia dos estados sépticos, principalmente agravando a disfunção endotelial, levou muitos pesquisadores a elaborarem estratégias terapêuticas, no sentido de atenuar os efeitos deletérios desta citocina (BEUTLER, MILSARK, CERAMI, 1985; TRACEY *et al*, 1987). Destacamos aqui a propriedade das drogas vasoativas, incluindo a dopexamina, de aumentar os níveis de AMPc intracelular, o que diminui os níveis do $\text{TNF}\alpha$ naquela topografia (GIROIR, 1993). Este efeito poderia ser somatório a nível de artéria mesentérica.

Do ponto de vista farmacológico, o fato de um determinado composto não interagir com o endotélio, significa não haver liberação de óxido nítrico, fator hiperpolarizante dependente do endotélio, ou mesmo de prostaglandinas. Estes compostos são liberados pelas células endoteliais, através da interação de alguns estímulos conhecidos (acetilcolina, tensão na parede vascular etc). Vale ressaltar que prostaglandinas podem ser liberadas na própria musculatura lisa.

⇒ *Hidrocloreto de dopexamina e óxido nítrico*

Outro resultado alcançado diz respeito à via do óxido nítrico. A dopexamina atua na artéria mesentérica de coelhos, promovendo vaso-dilatação sem liberar óxido nítrico ou mesmo interagir com a via da L-arginina. Este dado foi demonstrado por não ter havido alterações na curva dose-resposta com a incubação de L-NOARG. Não foi possível obter qualquer informação na literatura, a fim de confrontar os resultados. É importante ressaltar que o óxido nítrico, na maioria dos leitos vasculares, promove vaso-dilatação e regula o tônus vascular, direcionando fluxo e, conseqüentemente, suprimento metabólico para os tecidos (JOHNS, 1991). Especificamente no território mesentérico, o papel do óxido nítrico foi estudado na injúria de reperfusão, em modelo animal (KUBES, 1993). Neste estudo, o autor defende o conceito de que a presença de óxido nítrico endógeno é importante na limitação da injúria, após reperfusão do intestino isquêmico.

O óxido nítrico pode ser liberado pelas células endoteliais por vários mecanismos. Embora exista uma liberação basal contínua de óxido nítrico, esta pode ser otimizada por agonistas receptor-dependentes (acetilcolina, ATP ou bradicinina) e receptor-independentes (ionóforos Ca^{++} , polications, inibidores ATPase- Ca^{++} etc). Estímulos físicos, tais como, abrasão e estiramento pulsátil da parede vascular ou hipoxemia arterial, também ocasionam a liberação de óxido nítrico pelo endotélio vascular (BUSSE *et al*, 1993).

Infusão endovenosa de inibidor de óxido nítrico (N^G-monometil-L-arginina) provoca aumento da pressão arterial, acompanhada da diminuição da condutância vascular dos leitos carotídeo, renal e mesentérico (GARDINER apud JOHNS, 1990).

Embora não exista nenhuma evidência de que a dopexamina libere óxido nítrico na artéria mesentérica, se faz importante o registro negativo desta constatação, dada as múltiplas propriedades fisiológicas e fisiopatológicas do óxido nítrico. Esta ação independente, assim como em relação ao endotélio vascular, reforça a hipótese de que a dopexamina poderia manter sua propriedade vaso-dilatadora da artéria mesentérica, a despeito de severa disfunção endotelial ou produtos circulantes que inibam a ação do óxido nítrico.

Importante considerar também, que várias citocinas (TNF α , Interferon- γ e IL-1) são capazes de induzir à síntese de óxido nítrico e que liberação excessiva deste composto resulta em dessensibilização da guanilato ciclase, diminuindo a resposta a substâncias vaso-dilatadoras que dependem dessa enzima. Este fenômeno pode sugerir a existência de um importante processo adaptativo na regulação do tônus vascular, durante situações associadas com a indução da óxido-nítrico sintetase ¹ (KIMPE *et al*, 1994).

¹ Este conceito será enfatizado quando da discussão de dopexamina e nitroprussiato de sódio.

⇒ *Hidrocloreto de dopexamina e receptores de membrana celular*

Observou-se que antagonistas dos receptores β -adrenérgicos (propranolol) e dopaminérgicos (haloperidol) deslocaram a curva dose-resposta da dopexamina sobre anéis de artéria mesentérica. Esta constatação é corroborada inteiramente pela literatura (FITTON, 1990; NAPOLEONE *et al*, 1992; AMENTA *et al*, 1991). A caracterização farmacológica da ligação da [^3H]-dopexamina na vasculatura mesentérica de ratos demonstrou que a CI_{50} (concentração inibitória) do propranolol foi de $6,0 \mu\text{mol/l}$, proporcionando um deslocamento da dopexamina de seu receptor β -adrenérgico (AMENTA *et al*, 1991). Neste mesmo estudo, foi demonstrado a localização auto-radiográfica da ligação da [^3H]-dopexamina na vasculatura mesentérica. O maior acúmulo da droga ocorreu na adventícia, seguindo-se, em ordem decrescente, na média e na íntima. A adição de antagonista específico DA_1 (SCH 23390) causou perda de 70% da ligação da dopexamina na camada média, porém não alterou sua ligação nas camadas adventícia e íntima. Antagonista β -adrenérgico reduziu a ligação em cerca de 40% na adventícia, de 30% na média e de 40% na íntima.

O efeito agonista sobre os receptores adrenérgicos gera aumento proporcional do AMP cíclico intra-celular (AMENTA *et al*, 1991). Achado semelhante foi descrito quando, ao invés de tecido vascular mesentérico, musculatura cardíaca humana foi utilizada, como substrato tecidual, para mensurar o AMPc (NAPOLEONE *et al*, 1992). Este estudo corrobora o AMPc como segundo mensageiro nesta via de ação da dopexamina.

Em virtude da ligação da dopexamina com receptores dopaminérgicos e β_2 , Taylor *et al*, realizaram estudo experimental, infundindo-a após bloqueio dos receptores adrenérgicos. Observaram que a queda da resistência periférica não foi afetada, inferindo daí a importante participação dos receptores dopaminérgicos (TAYLOR *et al*, 1993).

O perfil interativo da dopexamina com essas diferentes populações de receptores suscita o interesse de confrontá-lo com uma importante situação fisiopatológica descrita em estados sépticos. Na vigência da sepse há importante produção de $\text{TNF}\alpha$. Esta citocina produz *down-regulation* dos receptores β -adrenérgicos, causando disfunção também da proteína G acoplada (SILVERMAN *et al*, 1993). Como a dopexamina produz seu efeito vaso-relaxante predominantemente em receptores dopaminérgicos, poderia haver uma manutenção quase integral de sua função farmacológica, caso este receptor não fosse atingido em estados sépticos ou em qualquer situação que houvesse produção excessiva de $\text{TNF}\alpha$.

No presente estudo pôde-se apenas caracterizar que a dopexamina realmente interage com receptores dopaminérgicos e β -adrenérgicos na musculatura lisa da artéria mesentérica superior. Este dado apenas ilustra os conhecimentos já expostos nesta dissertação.

⇒ *Hidroclorato de dopexamina e canais iônicos de potássio*

Os resultados evidenciaram fortemente que os canais de potássio cálcio (pequena-condutância) e ATP-dependentes não participam na ação vaso-relaxante da dopexamina sobre a artéria mesentérica superior de coelhos. Isto foi caracterizado em virtude do não deslocamento da curva dose-resposta da dopexamina, previamente incubada com apamina e glibenclamida.

Os canais de potássio são partícipes de diversas ações fisiológicas e farmacológicas. Embora seu efeito sobre o potencial de repouso da membrana celular seja conhecido desde 1950, até pouco tempo seu interesse em farmacologia era muito pequeno. Nos últimos anos seu conhecimento aumentou rapidamente, através de técnicas de registro eletrofisiológico, bloqueadores de alta afinidade, técnicas de clonagem de DNA complementar etc, e abriu a possibilidade destes canais participarem na regulação do tônus vascular, entre outras ações (HARVEY, 1993). Cromakalima e pinacidil são protótipos de drogas vaso-dilatadoras classificadas como *K⁺ channel openers* (HAMILTON, WESTON, 1989).

Os agentes que abrem os canais de potássio, na musculatura lisa, causam vaso-dilatação e hiperpolarização celular. Estes compostos têm a característica de promover vaso-dilatação em leitos vasculares específicos. Em coelhos anestesiados, o enantiômero negativo da cromakalima aumenta o fluxo sanguíneo mesentérico (ROBERTSON, STEIMBERG, 1989). Além disso, a cromakalima bloqueia as respostas pressoras da norepinefrina e da fenilefrina. Esses efeitos podem ser vistos, pelo menos parcialmente, com a dopexamina, o que suscitou interesse em se

observar a interação desta droga com os principais canais de potássio encontrados na musculatura lisa.

Pressão arterial e perfusão tecidual são controladas em parte pelo nível de tônus vascular intrínseco (miogênico). Contudo, muitas determinantes moleculares desta resposta são desconhecidas. Evidência atual suporta que o grau do tônus miogênico é regulado em parte pela ativação dos canais de potássio cálcio-dependentes de grande condutância, na musculatura lisa arterial (BRAYDEN, NELSON, 1992). Este *feed-back* negativo, exercido pelos canais de potássio, serviriam para modular o efeito de diversos estímulos endógenos vaso-constritores. A ativação destes canais proporciona efluxo de potássio e conseqüente estado de hiperpolarização, que se opõe à despolarização necessária para induzir uma contração da musculatura lisa. Para estudar esses efeitos, Brayden e Nelson utilizaram artéria cerebral de ratos e comprovaram os dados acima citados.

Em estudo destinado a revisar o papel dos canais de potássio na resposta vascular a vaso-dilatadores endógenos e farmacológicos, estes autores concluíram que existem vários tipos de canais de potássio na musculatura lisa vascular, incluindo canais de K⁺ cálcio-dependentes de pequena e de grande condutância, retificador interno, retificador retardado e ATP-dependente. Entre estes, os cálcio-dependentes de grande condutância e os ATP-dependentes têm sido apontados como envolvidos no mecanismo de vaso-dilatação por hiperpolarização. Relatam ainda que os canais de potássio ATP-dependentes interagem com várias substâncias vaso-dilatadoras e a hipóxia, na circulação coronariana, parece ativar esses canais (BRAYDEN *et al*, 1991). Referem ainda que a cromakalima abre canais de potássio ATP-dependentes em *patches* de membrana de células,

oriundas da artéria mesentérica de coelhos e induz hiperpolarização, a qual é revertida pela glibenclamida.

O presente estudo avaliou somente os canais de potássio ATP-dependentes e cálcio-dependentes de pequena condutância. A literatura parece corroborar progressivamente a participação dos canais de K⁺ ATP-dependentes e cálcio de grande condutância (estes últimos não foram analisados), como os mais importantes na resposta vaso-dilatadora da artéria mesentérica, bem como de vários outros leitos vasculares (BRAYDEN *et al*, 1991; ADEAGBO, MALIK, 1991). Sabendo-se que há uma grande variedade na disposição dos mais diferentes tipos de canais de potássio nos diversos tecidos, cabe, portanto, dar seguimento a este estudo, a fim de que, em futuro breve, se possa caracterizar definitivamente a participação dos canais de potássio na artéria mesentérica, sua contribuição para o tônus miogênico nesta topografia, bem como sua interação com diversas substâncias vaso-moduladoras, endógenas e exógenas.

Abre-se, portanto, uma clara linha de pesquisa, que seria a caracterização dos canais de potássio na vasculatura mesentérica, sua interação com vários estímulos agonistas e substâncias bloqueadoras e a conclusão do perfil interativo da dopexamina com os canais presentes nesta topografia.

⇒ *Efeito comparativo da dopexamina com outras drogas vaso-ativas*

Na última parte deste experimento, foram realizadas curvas dose-resposta com outras drogas vaso-ativas, utilizadas em terapia intensiva, e comparadas com dopexamina.

A indicação maior do uso desses compostos é a de aumentar, de modo global ou regional, a oferta de oxigênio aos tecidos (STANFORD, 1991).

Dopexamina e dobutamina

O efeito vaso-relaxante comparativo entre dopexamina e dobutamina revelou que possuem ação vaso-dilatadora semelhante sobre artéria mesentérica. No entanto, a dobutamina iniciou vaso-dilatação mais precoce que a dopexamina, e também possui menor DE_{50} ($p < 0,05$). Webb *et al*, estudaram comparativamente estas duas drogas, num modelo experimental de peritonite fecal porcina, e observaram que o fluxo hepático se mantinha acima dos valores basais com ambas as drogas. No entanto, havia importante destruição hepato-celular com ambos os grupos de tratamento — dano este que foi menor com o grupo tratado com dopexamina (menor vacuolização e auto-fagocitose). Este fato sugere que dopexamina agiria possivelmente na micro-circulação, favorecendo a oferta de oxigênio para os tecidos. Este estudo ressalta ainda que a dopexamina otimiza fluxo esplâncnico, mesmo em estados sépticos, principalmente por agir em receptores dopaminérgicos e não possuir ação alfa-adrenérgica, o que a diferenciaria da dobutamina (WEBB *et al*, 1991). Questiona também o aumento do AMPc, mais proeminente com dobutamina, o qual induz, em

modelos experimentais, à auto-fagocitose (ARSTILA apud WEBB, 1991). É importante ressaltar que as alterações estruturais hepáticas ocorreram em ambos os grupos, inferindo-se que na sepse não basta apenas aumentar a oferta de oxigênio para impedir o dano orgânico. Outro aspecto a considerar é o efeito antagônico do AMPc: ao mesmo tempo que inibe a formação intra-celular de TNF pode induzir à auto-fagocitose. Portanto, faltaria definir qual a ação preponderante, quando da utilização de drogas vasoativas.

Biro *et al*, utilizando microesferas marcadas, demonstraram que o fluxo sanguíneo gástrico aumentou de maneira dose-dependente, após a infusão de doses crescentes de dopexamina, enquanto que, com a dobutamina, houve aumento inicial do fluxo, sem posterior incremento. Efeito oposto ocorreu com a perfusão jejunal. O fluxo hepático, neste estudo, teria diminuído com a dopexamina. Deve-se, no entanto, considerar que circulações tipo porta não são ideais para serem avaliadas com microesferas (BIRO *et al*, 1988).

Não foi encontrado na literatura estudo comparativo entre dopexamina e dobutamina, especificamente sobre a artéria mesentérica, utilizando metodologia semelhante, a fim de confrontá-lo com este trabalho. Nota-se, no entanto, que os resultados apresentados aqui podem direcionar com mais propriedade a utilização desses compostos em situações clínicas de isquemia mesentérica, associadas às condições que exigem o uso de drogas vasoativas.

Dopexamina e dopamina

As curvas realizadas para a dopamina revelaram inicialmente, com baixas concentrações, seu poder vaso-relaxante sobre a artéria mesentérica. Porém, todas as curvas realizadas evidenciaram, com concentrações crescentes de dopamina, ação vaso-constritora.

Estudo comparativo entre dopamina e dopexamina, realizado em *beagles*, revelou que a dopamina reduziu a condutância (-60%) e o fluxo (-21%) na artéria mesentérica, e a dopexamina aumentou-os em 60 e 27%, respectivamente (van KESTEREN *et al*, 1993). Neste mesmo estudo, a dopexamina diminuiu a pressão arterial média, porém privilegiou fluxo para as artérias mesentérica e renal. Estes efeitos já se iniciaram em baixas doses e são extremamente atrativos, pois é freqüente ocorrer disfunção renal e isquemia mesentérica nos vários distúrbios perfusionais.

Kulmann *et al*, destacam a propriedade da dopamina de aumentar seletivamente o fluxo sangüíneo para região gástrica, em relação a outros leitos vasculares do trato gastrointestinal, talvez por localização e predomínio dos receptores dopaminérgicos naquela área (KULMANN *et al*, 1983).

Em outro estudo, destaca-se que dopexamina aumentou o índice cardíaco e diminuiu a resistência vascular sistêmica e renal. O efeito renal foi imputado à ação β_2 , no caso da dopexamina, e dopaminérgico com a dopamina (STEPHAN *et al*, 1990). Ação vaso-dilatadora sobre a artéria renal foi semelhante em pacientes submetidos a transplante hepático (GRAY, BODENHAM, PARK, 1991).

Quando estas duas drogas foram comparadas, em pacientes com disfunção ventricular esquerda de natureza isquêmica, ambas aumentaram o débito cardíaco e diminuíram a resistência vascular sistêmica. Com o aumento da dose, houve tendência para uma atividade mais vaso-dilatadora com a dopexamina do que com a dopamina (JACKSON, TAYLOR, FRAIS, 1988).

Importante destacar novamente que a principal vantagem da dopexamina sobre a dopamina reside na sua falta de interação com receptores α -adrenérgicos. Em baixas doses, dopamina promove vasodilatação da artéria mesentérica.

Dopexamina e nitroprussiato de sódio

Nitroprussiato de sódio mostrou marcada ação vasodilatadora sobre a artéria mesentérica, revelando um perfil semelhante ao da acetilcolina, a qual libera óxido nítrico. Nitroprussiato de sódio atua liberando espontaneamente óxido nítrico no citosol (LI, KURIYAMA, 1993), o que explica em parte a semelhança entre as curvas (nitro x acetilcolina). Houve um pequeno *plateau* na curva do nitroprussiato, que pode ser secundário à degradação parcial das doses anteriores, uma vez que são cumulativas.

Novamente, a literatura traz poucos estudos comparativos entre dopexamina e nitroprussiato de sódio. Os resultados obtidos podem ter como tradução clínica, que o nitroprussiato de sódio é um potente vasodilatador mesentérico e pode ser utilizado para otimizar oferta de oxigênio para estes tecidos. O grande impedimento de seu uso clínico é a hipotensão arterial, presente em grande parcela dos pacientes criticamente enfermos.

Estudo comparativo entre os efeitos hemodinâmicos da dopexamina com nitroprussiato de sódio e dobutamina associados, em pacientes com insuficiência cardíaca, revelou que a ação vaso-dilatadora e inotrópica positiva combinadas da dopexamina, resulta numa condição hemodinâmica que não difere, estatisticamente, daquela oferecida pela associação das outras duas drogas vasoativas (BAUMANN *et al*, 1988).

Não há estudo específico sobre a circulação mesentérica, comparando nitroprussiato de sódio e dopexamina. No entanto, com o objetivo de comparar os efeitos de vários vaso-dilatadores sobre a veia porta e a artéria mesentérica de ratos, Takaaki *et al*, demonstraram que o nitroprussiato, numa concentração de $2,5 \times 10^{-7}$ M, inibia em 50% a contração da artéria mesentérica, induzida com KCl (TAKAAKI *et al*, 1993). A metodologia utilizada foi semelhante à deste estudo. Em outra recente publicação, ficou caracterizado que o nitroprussiato relaxa anéis de artéria mesentérica, contraídos previamente com noradrenalina, na presença e na ausência de endotélio, e que, embora sem explicação, inibidor de óxido nítrico otimiza esta propriedade vaso-dilatadora. A metodologia aplicada neste último foi exatamente igual à do presente estudo (LI, KURIYAMA, 1993).

Outro dado já mencionado diz respeito à relação da liberação (basal ou induzida) de óxido nítrico e a dessensibilização da guanilato ciclase. Em condições de ampla produção de citocinas (sepse, trauma etc), ocorre aumento na produção de óxido nítrico e dessensibilização desta enzima, resultando em diminuição na resposta vaso-dilatadora ao nitroprussiato de sódio (KIMPE *et al*, 1994). Uma vez que o segundo mensageiro da dopexamina é o AMPc (oriundo da fosfodiesterase), não seria afetado nestas condições, mantendo sua ação vaso-dilatadora.

Portanto, novamente está caracterizado o efeito comparativo desses compostos, quanto ao poder vaso-relaxante sobre a artéria mesentérica. É fundamental, quando da utilização dessas drogas vasoativas num determinado contexto clínico, considerar esse efeito comparativo aqui demonstrado, bem como as alterações hemodinâmicas provocadas pelas duas drogas.

⇒ *Limitações do estudo experimental in vitro*

Os estudos experimentais *in vitro* caracterizam-se pela reprodutibilidade e fidedignidade de resultados, quando concebidos e executados com metodologia correta. O refinamento no controle das variáveis confere a esses estudos tais características.

No entanto, existem importantes limitações, as quais devem ser lembradas, a fim de resguardar os resultados alcançados e possibilitar um raciocínio mais adequado na interpretação dos mesmos.

A principal limitação seria a transposição dos resultados obtidos para a prática clínica. Quando se realiza estudo *in vitro*, cria-se um ambiente artificial, com controle rigoroso das variáveis envolvidas, e não existe “contaminação” pelas respostas sistêmicas orgânicas, habituais em situações de *stress* fisiológico. Esses ambientes divergentes devem propiciar padrões de respostas diferentes, quando, por exemplo, se estuda um dado composto farmacológico.

Especificamente neste estudo, outras limitações devem ser colocadas. Em primeiro lugar, foi utilizada metodologia bastante simples, se comparada com o refinamento tecnológico disponível atualmente. Na caracterização funcional da dopexamina e sua interação com receptores de membrana, foram utilizados antagonistas destes receptores, quando técnicas de *binding* são mais precisas e específicas e, portanto, mais indicadas. Também quanto à escolha dos antagonistas, não foram utilizados os específicos para um determinado receptor (propranolol e haloperidol). Estas limitações, todavia, não prejudicam o estudo como um todo, já que é farta a literatura sobre a interação da dopexamina com os receptores de

membrana na musculatura lisa, inclusive na artéria mesentérica (BROW *et al*, 1985; AMENTA *et al*, 1991; BREDLE, CAIN, 1991).

Em relação aos canais de potássio, avaliou-se a participação dos ATP-dependentes e cálcio-dependentes de pequena condutância. Em virtude da participação dos canais de potássio cálcio-dependentes de grande condutância no tônus miogênico, seria de boa norma observar sua interação no leito vascular mesentérico com drogas vasoativas, por exemplo, dopexamina. Infere-se assim que este estudo deve continuar, afim de completar alguns aspectos correlatos.

O endotélio vascular interage com a musculatura lisa, através de vários mediadores. Foi verificada a participação deste com o poder vaso-relaxante da dopexamina. Prostaglandinas, liberadas pelo endotélio vascular, também o são na própria musculatura e a PGI₂ atua por vaso-dilatação. Dopexamina poderia liberar esta substância, a qual contribuiria à ação vaso-dilatadora da mesma. Estudos iniciais, em nosso meio, estão sendo realizados com este intuito.

Foram estabelecidos, com este estudo, vários substratos para o desenvolvimento de pesquisas com este composto, em virtude da pequena contribuição da literatura na caracterização funcional da dopexamina sobre a artéria mesentérica. Além disso, a própria metodologia deste estudo, embora bastante simples, é amplamente utilizada, tanto do ponto de vista metodológico, quanto da escolha do vaso, para estudos de contratilidade e relaxamento, análise da função endotelial ou de receptores de membrana (FURMAN, SNEDDON, 1993; POHL *et al*, 1991; CUSMA-PELÓGIA *et al*, 1993; FUKUDA *et al*, 1991).

Esta interação entre estudos clínicos e experimentais objetiva o melhor entendimento desta droga e seu provável emprego em estados de baixo fluxo esplâncnico. A independência de ação em relação ao endotélio vascular, aos canais de potássio ATP e cálcio-dependentes de pequena condutância, ao óxido nítrico e ao GMPc, além de seu poder vaso-relaxante comparativo ao de outras drogas vasoativas, abrem clara linha de pesquisa. Estudos posteriores devem aumentar o entendimento da ação da dopexamina sobre a artéria mesentérica, objetivando sua melhor utilização no contexto clínico das disfunções perfusionais orgânicas.

CONCLUSÕES

VIII - CONCLUSÕES

- 01. O Hidrocloreto de Dopexamina demonstrou marcada ação vaso-dilatadora sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de coelhos;**
- 02. Na caracterização desse perfil farmacológico, pôde-se demonstrar que a dopexamina interage com receptores de membrana dopamínérgicos e adrenorreceptores beta;**
- 03. O Hidrocloreto de dopexamina desenvolve sua ação vaso-dilatadora sem interagir com endotélio vascular. Esta propriedade capacitaria este composto a agir em situações de disfunção endotelial (sepse, politraumatismo, pancreatite etc);**

- 04. Não há liberação de óxido nítrico durante a interação da dopexamina na musculatura lisa da artéria mesentérica. Esta característica é relevante, na medida em que o óxido nítrico assume atualmente uma participação biológica ativa em vários processos fisiológicos e fisiopatológicos. Na injúria de reperfusão intestinal, tem papel protetor;**
- 05. Dopexamina não abre canais de potássio ATP-dependentes ou cálcio-dependentes (pequena condutância). Lança-se a perspectiva de definir, em futuro breve, a participação dos canais de potássio no tônus miogênico desta artéria, bem como sua interação com substâncias vaso-dilatadoras (dopexamina, dobutamina, dopamina e nitroprussiato de sódio);**
- 06. Comparativamente, o hidrocloreto de dopexamina tem potência menor que dobutamina, nitroprussiato de sódio e acetilcolina. Apresenta potência maior que dopamina e não provoca vaso-constricção como aquela;**

- 07. Trata-se, portanto, de uma droga que vaso-dilata a artéria mesentérica superior de coelhos, abrindo perspectiva terapêutica em várias condições de severo distúrbio perfusional, onde haveria isquemia mesentérica, mesmo em estados de disfunção endotelial.**

ABSTRACT

IX - ABSTRACT

This is an experimental *in vitro* study that analysis the functional carактерization of the responses to dopexamine hydrochloride in rabbit isolated superior mesenteric artery rings.

We worked on 22 adults New Zealand rabbits.

Mesenteric artery rings from New Zeland rabbits were used and initially kept for one hour in a Krebs-Heinseleit solution. A potassium hyperosmolar solution was added to attain maximum contractive effect. Briefly, a tonus with phenilephrine was induced and series of dose-response curves were recorded in the presence of several inhibiting substances, in the presence and in the absence of endothelium, as well as comparatively with others vasodilators.

The study has show a marked vasodilating effect of the dopexamine on the mesenteric arteries of rabbits, mainly by acting on the dopaminergic receptors, regardless of the presence or absence of endothelium, nitric oxide or potassium channels.

Comparatively, it is less potent than sodium nitroprusside, dobutamine and acetylcholine. However, it is more potent than dopamine without its vasoconstrictive effects.

From the clinical point of view, perspectives unfold in the treatment of low splanchnic flow states, regardless of the basic cause.

In summary, it is a drug that privileges the flow to the mesenteric bed, possibly even in the condition of abnormal production of nitric oxide or guanylate cyclase desensibilization, which is common disorders in the severe endothelial dysfunction states.

BIBLIOGRAFIA

X - BIBLIOGRAFIA

01. **ADEAGBO A.S.O., MALIK K.U.** Contribution of K⁺ channels to arachidonic acid-induced endothelium-dependent vasodilation in rat isolated perfused mesenteric arteries. J Pharmacol Exp Ther, v.258, n.2, p.452-58, 1991.
02. **AMENTA F. et al.** Anatomical localization of the binding and functional characterization of responses to dopexamine hydrochloride in rat mesenteric vasculature. Pharmacology, v.42, p.211-22, 1991.
03. **ANABUKI et al.** Mechanisms of pinacidil-induced vasodilatation. Eur J Pharmacol, v.190, p.373-79, 1990.
04. **ATALLAH M.M. et al.** Renal effect of dopexamine hydrochloride in patients with chronic renal dysfunction. Urol Res, v.20, p.419-424, 1992.
05. **BASS A.S. et al.** Mechanisms mediating the positive inotropic and chronotropic changes induced by dopexamine in the anesthetized dog. J Pharmacol Exper Ther, v.242, n.3, p.940-44, 1987.

06. BASS A. S. Contrasting effects of dopexamine hydrochloride on electrolyte excretion in canine kidney. J Pharmacol Exper Therap, v.253, n.7, p.798-02, 1990.
07. BAUMANN G. *et al.* Comparison of acute haemodynamic effects of dopexamine hydrochloride, dobutamine and sodium nitroprusside in chronic heart failure. Eur Heart J, v.9, p.503-12, 1988.
08. BAUMANN G. *et al.* Usefulness of dopexamine hydrochloride versus dobutamine in chronic congestive heart failure and effects on hemodynamics and urine output. Am J Cardiol, v.65, p.748-54, 1990.
09. BERSTEN A. D. *et al.* The effect of various sympathomimetics on the regional circulations in hyperdynamic sepsis. Surgery, v.112, n.3, p.549-61, 1992.
10. BEUTLER B., MILSARK I.W., CERAMI A. Passive immunization against cachetin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. Science, v.229, p.869-71, 1985.
11. BIRO G.P. *et al.* Changes in regional blood flow distribution induced by infusions of dopexamine hydrochloride or dobutamine in anesthetized dogs. Am J Cardiol, v.62, p.30C-36C, 1988.
12. BOHM M. *et al.* The β_2 -adrenoreceptor-mediated positive inotropic effect of dopexamine in the failing human heart. Br J Pharmacol, v.95, Suppl : 491, 1988.

13. **BOYD O., GROUNDS M., BENNETT D.** The use of dopexamine hydrochloride to increase oxygen delivery perioperatively. Anesth Analg, v.76, p.372-76, 1993.
14. **BRAYDEN J.E. et al.** Role of potassium channels in the vascular response to endogenous and pharmacological vasodilators. BloodVessels, v.28, p.147-53, 1991.
15. **BRAYDEN J.E., NELSON M.T.** Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium channels. Science, v.256, p.532-35, 1992.
16. **BREDLE D. L., CAIN S. M.** Systemic and muscle O₂ uptake/delivery after dopexamine infusion in endotoxic dogs. Crit Care Med, v.19, p.198-204, 1991.
17. **BRISTOW M. R. et al.** Beta₁ and beta₂ adrenergic subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta₁ receptor down-regulation in heart failure. Circ Res, v.59, p.297-309, 1986.
18. **BRODDE O. E. et al.** Regional distribution of beta-adrenoreceptors in the human heart : coexistence of functional beta₁ and beta₂ adrenoreceptors in both atria and ventricles in severe congestive heart failure. J Cardiovasc Pharmacol, v.8, p.1235-42, 1986.

19. BROWN R.A. *et al.* Dopexamine: a novel agonist at peripheral dopamine receptors and beta₂ adrenoreceptors. B Journal Pharmacol, v.85, p.599-08, 1985a.
20. BROWN R. A. *et al.* FPL 60278 (dopexamine) : actions at pre and postjunctional dopamine receptors and at α - and β -adrenoreceptors. Br J Pharmacol, v.81, Suppl 2, p.120P-27P, 1984.
21. BROWN R.A. *et al.* The effects of dopexamine on the cardiovascular system of the dog. Br J Pharmacol, v.85, p.609-19, 1985b.
22. BUSSE R. *et al.* Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. Circulation, v.87, Suppl V, p.V18-V25, 1993.
23. CAIN S.M., CURTIS S. E. Systemic and regional oxygen uptake and delivery and lactate flux in endotoxic dogs infused with dopexamine. Crit Care Med, v.19, p.1152-60, 1991.
24. CHINTALA M.S. *et al.* Evaluation of the effects of dopexamine, a novel DA₁ receptor and β_2 -adrenoceptor agonist, on cardiac function and splanchnic circulation in canine model of hemorrhagic shock. Arch Pharmacol, v.347, p.296-300, 1993.
25. COLARDYN F. A., VANDENBOGAERDE J. F. Use of dopexamine hydrochloride in intensive care patients with low-output left ventricular heart failure. Am J Cardiol, v.62, p.68C-72C, 1988.
26. COOK N. S. The pharmacology of potassium and their therapeutic potential. Trends Pharmacol Sci, v.9, p.21-8, 1988.

27. CUSMA-PELÓGIA *et al.* Endothelium inactivation in *in vitro* perfused vascular beds comparison of methods. J Pharmacol Toxicol Methods, v. 29, n.3, p.157-63, 1993.
28. DEITCH E.A. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and MOF. Arch Surg, v.125, p.403-04, 1990.
29. DOGLIO G.R. *et al.* Gastric mucosal pH as a prognostic index of mortality in critically ill patients. Crit Care Med, v.19, p.1037-40, 1991.
30. EVORA P.R.B. Alguns aspectos farmacológicos da função endotelial em cirurgia cardíaca. Tese de Livre Docência (Faculdade de Medicina Ribeirão Preto), 1992.
31. FIDDIAN-GREEN R.G. A sensitive and diagnostic test for intestinal ischemia using Silastic Tonometers. Eur Surg J, v.16, Suppl, p.32, 1984.
32. FIDDIAN-GREEN R.G. Tonometry: theory and applications. Intensive Care Med, v.9, n.2, p.60-5, 1992.
33. FIDDIAN-GREEN R. G. Tonometry: Part 2 - Clinical use and cost implications. Intensive Care Med, v.9, n.3, p.130-35, 1992.
34. FINK M.P. Shock : an overview. In : Rippe J. *et al.* Intensive Care Medicine. 2 ed. Boston. Little, Brow Company, 1991. Cap. 147, p.1417-35.

35. FINK M. P. Gastrointestinal mucosal injury in experimental models of shock, trauma, and sepsis. Crit Care Med, v.19: p.627-41, 1991.
36. FINK M. P. Adequacy of gut oxygenation in endotoxemia and sepsis. Crit Care Med, v.21, p.S4-S8, 1993.
37. FITTON A., BENFIELD P. Dopexamine Hydrochloride - A review of its pharmacology and pharmacokinetic. Properties and therapeutic potential in acute cardiac insufficiency. Drugs, v.39, n.2, p.308-30, 1990.
38. FRIEDEL N *et al.* The use of dopexamine after cardiac surgery: acute and long-term effects in patients with impaired cardiac function. Thorac cardiovasc Surgeon, v.40, p.378-81, 1992.
39. FOULDS R.A. Clinical development of dopexamine hydrochloride (Dopacard) and an overview of its hemodynamic effects. Am J Cardiol, v.62, p.41C-45C, 1988.
40. FUKUDA *et al.* Cyclic GMP formation of resistance vessel in the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. Japan Circ J, v.55, p.721-28, 1991.
41. FURCHGOTT R. S., ZAWADZKI J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature, v.288, p.373-76, 1980.

41. FURCHGOTT R.S. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite : the basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium - derived relaxing factor is nitric oxide. In : VANHOUTTE P.M. Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium, New York, Raven Press, 1988, p. 401-14.
43. FURMAN B. L., SNEDDON P. Endothelium-dependent vasodilator responses of the isolated mesenteric bed are preserved in long-term streptozotocin diabetic rats. Eur J Pharamacol, v. 232, p.29-4, 1993.
44. GHOSH S. *et al.* Endotoxin-induced organ injury. Crit Care Med, v.21, p.S19-S24, 1993.
45. GIBALDI, M. What is nitric oxide and why are so many people studying it ? J Clin Pharmacol, v.33, p.448-96, 1993.
46. GIBBONS G.H., DZAU V.J. The emerging concept of vascular remodeling. N Eng J Med, v.330, n.20, p.1431-38, 1994.
47. GIROIR B. P. Mediators of septic shock : New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. Crit Care Med, v.21, p.780-89, 1993.
48. GOLDBERG, L.I., BASS A.S. Relative significance of dopamine receptors, beta adrenoreceptors and norepinephrine uptake inhibition in the cardiovascular actions of dopexamine hydrochloride. Am J Cardiol, v.62, p.37C-40C, 1988.

49. GOLLUB S. B. *et al.* Hemodynamic effects of dopexamine hydrochloride infusions of 48 to 72 hours' duration for severe congestive heart failure. Am J Cardiol, v.62, p.83C-8C, 1988.
50. GRAY P.A., BODENHAM A.R., PARK G.R. A comparison of dopexamine and dopamine to prevent renal impairment in patients undergoing orthotopic liver transplantation. Anaesthesia, v.46, p.638-41, 1991.
51. GRUM C. M. *et al.* Adequacy of tissue oxygenation in intact dog intestine. J Appl Physiol, v.5, p.1065-69, 1984.
52. GUTIERREZ G. *et al.* Gastric intramucosal pH as a therapeutic index of tissue oxygenation in critically ill patients. Lancet, v.339, n.8787, p.195-99, 1994.
53. HAGLUND U. Pathophysiology of gut mucosal barrier breakdown in shock. In: VINCENT J. L. Year Book of Intensive Care and Emergency Medicine, Berlin Heidelberg, Germany : Springer-Verlag, 1992, p.241-47.
54. HAGLUND U. Systemic mediators released from the gut in critical illness. Crit Care Med, v.21, p.S15-S18, 1993.
55. HAKIM M. *et al.* Dopexamine hydrochloride a β_2 adrenergic and dopaminergic agonist; haemodynamic effects following cardiac surgery. Eur Heart J, v.9, p.853-58, 1988.

56. **HAMID Q. *et al.* Induction of nitric oxide synthase in asthma. Lancet, v.342, p.1510-13, 1993.**
57. **HAMILTON T.C., WESTON A.H. Cromakalim, nicorandil and pinacidil : Novel drugs which open potassium channels in smooth muscle. Gen Pharmacol, v.20, n.1, p.1-9, 1989.**
58. **HAMMOND J.M.J., POTGIETER P.D., SAUDERS G.L. Selective decontamination of the digestive tract in multiple trauma patients — Is there a role ? Results of a prospective, double-blind, randomized trial. Crit Care Med, v.22, n.1, p.33-9, 1994.**
59. **HANIQUE G. *et al.* Evaluation of oxygen uptake and delivery in critically ill patients : a statistical reappraisal. Intensive Care Med, v.20, p.19-26, 1994.**
60. **HARTMANN M. *et al.* Tissue oxygenation in hemorrhagic shock measured as transcutaneous oxygen tension, subcutaneous oxygen tension and gastrointestinal pH : an experimental study in pigs. Crit Care Med, v.19, p.205-10, 1991.**
61. **HARVEY A. L. Neuropharmacology of potassium ion channels. Med Res Rev, v.13, n.1, p.81-104, 1993.**
62. **HEARD S.O., FINK M.P. The multiple organ failure syndrome. In: RIPPE J.M. *et al.* Intensive Care Medicine. 2th ed. London. Little, Brown and Company, 1991. Cap. 156, p.1515-32.**

63. HERMSMEYER R.K. Pinacidil actions on ion channels in vascular muscle. J Cardiovasc Pharmacol, v.12, Suppl 2, p.S17-S22, 1988.
64. HUTCHESON I.R., WHITTLE B.J.R., BOUGHTON-SMITH N.K. Role of nitric oxide in maintaining vascular integrity in endotoxin-induced acute intestinal damage in the rat. Br J Pharmacol, v.101, p.815-20, 1990.
65. IGNARRO L.J. *et al.* Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc. Natl. Acad. Sci, v.84, p.9265-69, 1987.
66. JACKSON N.C., TAYLOR S.H., FRAIS M.A. Hemodynamic comparison of dopexamine hydrochloride and dopamine in ischemic left ventricular dysfunction. Am J Cardiol, v.62, p.73C-7C, 1988.
67. JOHNS R.A. EDRF/Nitric oxide. The endogenous nitrovasodilator and a new cellular messenger. Editorial Views : Anesthesiology, v.75, p.927-31, 1991.
68. van KESTEREN R.G. *et al.* Comparison of effects of dopamine hydrochloride and dopexamine hydrochloride on abdominal and femoral hemodynamics in anesthetized dogs. Circ Shock, v.40, p.227-33, 1993.
69. KIMPE S.J *et al.* Induction of nitric oxide release by interferon- γ inhibits vasodilation and cyclic GMP increase in bovine isolated mesenteric arteries. J Pharmacol Exp Ther, v.268, p.910-15, 1994.

70. **KOLLEF M.H.** The role of selective digestive tract decontamination on mortality and respiratory tract infections - A meta analysis. Chest, v.105, p.1101-08, 1994.
71. **KUBES P.** Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. Am Physiol Soc, p.G143-G49, 1993.
72. **KULKA P.J., TRYBA M.** Inotropic support of the critically ill patients - A Review of the agents. Drugs, v.45, n.5, p.654-67, 1993.
73. **KU D.D.** Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. Science, v.218, p.576-78, 1982.
74. **KULMANN R. et al.** Blood flow redistribution by dopamine in the feline gastrointestinal tract. Life Sci, v.32, p.2115-22, 1983.
75. **KVIETYS P.R., GRANGER D.N.** Vasoactive agents and splanchnic oxygen uptake. Amer J Physiol, v.243[Gastrointest liver physiol 5]: p.G202-G08, 1982.
76. **LAMAS S. et al.** Nitric oxide synthesis in endothelial cells: evidence for a pathway inducible by TNF α . Am Physiol Soc, p.C634-C41, 1991.
77. **LANG R.M. et al.** Role of the Beta₂ adrenoreceptor in mediating positive inotropic activity in failing heart and its relation to the hemodynamic actions of dopexamine hydrochloride. Am J Cardiol, v.62, p.46C-52C, 1988.

78. LATORRE R. *et al.* Varieties of calcium-activated potassium channels. Ann Rev Physiol, v.51, p.385-99, 1989.
79. LEIER C.V. *et al.* Cardiovascular pharmacology of dopexamine in low output congestive heart failure. Amer J Cardiol, v.62, p.94-9, 1988.
80. LEFER A. M., XIN-LIANG MA. Cytokines and growth factors in endothelial dysfunction. Crit Care Med, v.21, p.S9-S14, 1993.
81. LI JIAN-YI, KURIYAMA H. Comparison of actions of endothelium-derived nitric oxide and sodium nitroprusside on mechanical responses evoked in aorta and mesenteric artery of the rabbit. Gen. Pharmacol, v.24, p.377-85, 1993.
82. LOKHANDWALA, M.F., BARRET, R.J. Cardiovascular dopamine receptors : physiological, pharmacological and therapeutic implications. J Auton Pharmacol. Rev., v.3, p.189-15, 1982.
83. LORENTE J.A. *et al.* L-arginine pathway in the sepsis syndrome. Crit Care Med, v.21, n.9, p.1287-95, 1993.
84. LUND N., ASLA R. J., PAPADAKOS P. J., *et al.* Dopexamine hydrochloride in septicemia: effects on gut, liver and muscle oxygenation. Crit Care Med, v.20, Suppl 4, p.46, 1992.
85. MacKINNON F.N., SIBBALD W.J., ARNOLD M.J.O., *et al.* Dopexamine hydrochloride increases oxygen delivery and reactive hyperemia in moderately ill septic patients. Crit Care Med, v.20, Suppl 2, p.101, 1992.

86. **MAGRINI *et al.*** Renal hemodynamic effects of dopexamine hydrochloride. Am J Cardiol, v.62, p.53C-6C, 1988.
87. **de MARCO *et al.*** Dopexamine hydrochloride in chronic congestive heart failure with improved cardiac performance without increased metabolic cost. Am J Cardiol, v.62, p.57C-62C, 1988.
88. **MEAKINS J. L., MARSHALL J.C.** The gut as the motor of multiple system organ failure. In: Splanchnic Ischemia and Multiple Organ Failure. Marston A, Bulkley G.B., Fiddian-Green R.G. et al (Eds). London, Edward Arnold Publishers, 339-48, 1989.
89. **MITCHELL *et al.*** Inhibition of uptake-1 by dopexamine hydrochloride (*in vitro*). Br J Pharmacol, v.92, p.265-70, 1987.
90. **MONCADA S., PALMER R. M .J., HIGGS, E. A.** Nitric oxide : physiological, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev., v.43, p.109-42, 1991.
91. **NAPOLEONE P. *et al.*** Dopexamine hydrochloride in the human heart : receptor binding and effects on cAMP generation. Eur Heart J., v.13, p.1709-17, 1992.
92. **NELSON M.T. *et al.*** Noradrenaline contracts arteries by activating voltage-dependent calcium channels. Nature, v.336, p.383-85, 1988.

93. PALMER, R.M.J. *et al.* The role of nitric oxide in endothelial cell damage and its inhibition by glucocorticoids. Br J Pharmacol, v.105, p.11-12, 1992.
94. PALMER R.M.J., FERRIGE A.G., MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature, v.327, p.524-26, 1987.
95. PARRATT J. R., WAINWRIGHT C.L. , FAGBEMI O. Effect of dopexamine hydrochloride in the early stages of experimental myocardial infarction and comparison with dopamine and dobutamine. Amer J Cardiol, v.62, p.18C-23C, 1988.
96. PARRILLO J.E. Pathogenetic mechanisms of septic shock. N Engl J Med, v.328, p.1471-77, 1993.
97. PINSKY M.R. Beyond global oxygen supply-demand relations: in search of measures of dysoxia. Intensive Care Med, v.20, p.1-3, 1994.
98. POHL U. *et al.* EDRF-mediated shear-induced dilation opposes myogenic vasoconstriction in small rabbit arteries. Am J Physiol, v.261, p.2016-23, 1991.
99. QUAST U., COOK N.S. In vitro and in vivo comparison of two K⁺ channel openers, diazoxide and cromakalim, and their inhibition by glibenclamide. J Pharmacol Exp Ther, v.250, p.261-71, 1989.
100. REILLY P.M., BULKLEY G.B. Vasoactive mediators and splanchnic perfusion. Crit Care Med, v.21, n.2, p.S55-S68, 1993

101. ROBERTSON D.W., STEINBERG M.I. Potassium channel openers: new biological probes. Annals reports in medicinal chemistry, v.10, p.91-100, 1989.
102. RUSH B.F. *et al.* Endotoxemia and bacteremia during hemorrhagic shock – The link between trauma e sepsis. Ann Surg, v.207, p.549-54, 1988.
103. SHEPHERD A.P. *et al.* Selective vasodilators redistributive intestinal blood flow and depress oxygen uptake. Amer J Physiol, v.274, Suppl 10, p.G377 -G84, 1984.
104. SHOEMAKER W.C. *et al.* Prospective trial of supranormal values of survivors as therapeutic goals in high-risk surgical patients. Chest, v.94, p.1176-86, 1988.
105. SILVERMAN H. *et al.* Impaired beta-adrenergic receptor stimulation of cyclic adenosine monophosphate in human septic shock:association with myocardial hyporesponsive to catecholamines. Crit Care Med, v.21, p.31-9, 1993.
106. SMITH G.W., NAYA I. Inhibition of uptake I in the dog by dopexamine hydrochloride. Br J Pharmacol, v.92, Suppl 1, p.777-81, 1988.
107. SMITH G. W., O'CONNOR S. E. An introduction to the pharmacologic properties of dopacard (Dopexamine hydrochloride). Amer J Cardiol, v.62, p.9C-17C, 1988.

108. SMITHIES M. *et al.* Protecting the gut and liver in the critically ill: effects of dopexamine. Crit Care Med, v.22, n.5, p.789-95, 1994.
109. STANFORD G. G. Use of inotropics agents in critical illness. Surg Clin North Amer, v.71, n.4, p.683-98, 1991.
110. STEPHAN H. *et al.* Cardiovascular and renal haemodynamic effects of dopexamine : comparison with dopamine. Br J Anaesth, v.65, p.380 - 87, 1990.
111. STOCLET J-C *et al.* Nitric oxide and endotoxemia. Circulation, v.87, suppl V, p.V77-V80, 1993.
112. SWAN H.J.C. *et al.* Catheterization of the heart in man with use of flow directed ballon-tipped catheter. N Engl J Med, v.283, p.447-51, 1970.
113. TAKAAKI S. *et al.* Comparison of the effects of various vasodilators on the rat portal vein and mesenteric artery. Eur J Pharmacol, v.242, p.129-36, 1993.
114. TAN I.K.S., BHATT S.B. Dopexamine and oxygen consumption (Letters) Anesth Analg, v.77, p.864, 1993.
115. TAYLOR R.J. *et al.* Effects of dopexamine on hemodynamics and oxygen consumption after beta blockade in lambs. Crit Care Med, v.21 , p.733-39, 1993.

116. TIGHE D. *et al.* Dopexamine Hydrochloride maintains portal blood flow and attenuates hepatic ultrastructural changes in a porcine peritonitis model of multiple system organ failure. Circ Shock, v.39, p.199-06, 1993.
117. TRACEY, *et al.* Anti-cachetin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. Nature, v.330, p.662-64, 1987.
118. VANHOUTTE P. M. Epithelium-derived relaxing factor(s) and bronchial reactivity. Am Rev Respir Dis, v.138, p.S24-30, 1988.
119. VINCENT J.L., REUSE C., KAHN R.J. Administration of dopexamine, new adrenergic agent, in cardiorespiratory failure. Chest, v.96 , p.1233-36, 1989.
120. WEBB A. R. *et al.* The effects of dobutamine, dopexamine and fluid on hepatic histological responses to porcine faecal peritonitis. Intens Care Med, v.17, p.487-93, 1991.
121. WINQUIST R. J. *et al.* Glyburide blocks the relaxation response to BRL 34915 (cromakalim), minoxidil sulfate and diazoxide in vascular smooth muscle. J Pharmacol Exp Ther, v.248, p.149-56, 1989.

ANEXO I

XI - ANEXO I

PRÍNCIPIOS BÁSICOS PARA A PESQUISA ENVOLVENDO O USO DE ANIMAIS

1. A experimentação animal deve ser desenvolvida apenas após profunda consideração de sua relevância para a saúde humana e animal e para o avanço do conhecimento científico;

2. Os animais selecionados para uma experiência devem ser de uma espécie e quantidade apropriadas e apresentar boas condições de saúde, utilizando-se o número mínimo necessário para se obter resultados válidos. Para tanto devem ser utilizados, sempre que possível, estatística de pequenos números, experiência com auto-controle e uso mais eficiente de animais;

3. Os procedimentos com animais, que possam causar dor ou angústia, devem ser desenvolvidos com sedação, analgesia ou anestesia sempre que possível. Os procedimentos invasivos e drogas paralisantes nunca devem ser empregados sem a administração de agentes anestésicos;

4. Experiências crônicas nas quais haverá sobrevida pós-cirurgia devem prever cuidados com assepsia e prevenção de infecções. Nas experiências cirúrgicas agudas, o animal deve ser mantido inconsciente durante toda a sua duração;

5. Naquelas experiências que requerem a imobilização física e/ou privação alimentar ou hídrica, deve ser dada atenção especial no sentido de minimizar o desconforto ou *stress* e de manter as condições gerais de saúde. A imobilização deve ser mantida a um mínimo absolutamente necessário e ser precedida por um período de adaptação;

6. Ao término da experiência, os animais devem ser sacrificados de maneira adequada para a espécie, idade e número de animais, e de forma rápida, indolor e irreversível;

7. O uso de animais em procedimentos experimentais pressupõe a disponibilidade de alojamento que proporcione condições de vida adequadas às espécies. O transporte, a acomodação, a alimentação e os cuidados com os animais criados ou usados para fins biomédicos devem ser realizados por técnico qualificado sob a supervisão de um veterinário;

8. As experiências devem ser realizadas ou diretamente supervisionadas por pessoas com níveis apropriados de experiência e treinamento para exercer procedimentos em animais vivos. Deve-se criar condições para o treinamento de pessoal no local de trabalho, incluindo aspectos do trato e uso humanitário dos animais de laboratório.

ANEXO II

XII - ANEXO II

DESCRIÇÃO DO COMPOSTO E CUIDADOS NA MANIPULAÇÃO

IDENTIDADE **HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA (Dopacard)**
Nome Químico (4-[2-[[6-[(2-feniletil)amino]hexyl]amino]-etil]-1,2-benzenediol) , dihydrochloride

Fórmula Química $C_{22}H_{32}N_2O_2HCl$ **Uso:** ICC

DADOS FÍSICOS

Ponto de fusão 220-21°C
Aparência/odor cristalina, sem odor (sólida)
Solubilidade Solubilidade > 2% em água, (2% em salina)
Estabilidade Estável a 20°C quando sólida e em solução(sensível a luz) - **PROTEGER DA LUZ**
Reatividade Desconhecida

DADOS DE TOXICIDADE

Genotoxicidade Positivo sob condições *in vitro* somente. Risco de genotoxicidade considerado ser baixo.
DL₅₀ > 4000mg.kg⁻¹ em ratos (oral)

Rotas de entrada inalação

Órgãos alvo Coração e fígado

PERIGOS PARA SAÚDE

Este composto não é absorvido através do trato gastro-intestinal ou pela pele. Ele requer entrada direta (injeção ou infusão) para manifestar seus efeitos biológicos, os quais são relativamente de curta duração (5-10 minutos). Este composto causará um aumento na frequência cardíaca e possivelmente rubor na pele, palpitações e cefaléia. Ele é irritante para pele, olhos e vias aéreas superiores causando lacrimejamento e crises esternutatórias.

ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

Armazenar em *containers* selados, em condições frias e secas evitando expor à luz solar. Manter afastados de outros vapores químicos ou odores. Devem ser adequadamente rotulados.

AJUSTE DO pH

Ajustar o pH para 2,5 (2,3-2,7) com Ácido Hidroclorídrico Molar.



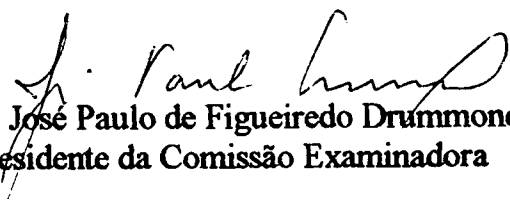
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS UNIVERSITÁRIO - TRINDADE - CAIXA POSTAL 476
CEP 88.040-900 - FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA
TEL. (0482) - 34.1000 - TELEX: 0482 240

DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

No dia 8 de setembro de 1994, às 8:30 horas, no Auditório do Centro de Ciências da Saúde, o aluno do Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Medicina Interna - ELIÉZER SILVA, submeteu-se à defesa de sua Dissertação de Mestrado intitulada "CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DAS RESPOSTAS AO HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA SOBRE A ARTÉRIA MESENTÉRICA SUPERIOR ISOLADA DE COELHOS", ocasião em que foram emitidos os seguintes conceitos pela Banca Examinadora:

| NOME | CONCEITO |
|---|------------------|
| Prof. José Paulo de Figueiredo Drummond | <u> A </u> |
| Prof. Renato G.G. Terzi | <u> A </u> |
| Prof. Mário Sérgio S. de Azeredo Coutinho | <u> A </u> |
| Prof. Marcelino Osmar Vieira | <u> A </u> |
| CONCEITO FINAL: | <u> A </u> |

Florianópolis, 8 de setembro de 1994.


Prof. José Paulo de Figueiredo Drummond
Presidente da Comissão Examinadora



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
 CAMPUS UNIVERSITÁRIO - TRINDADE - CAIXA POSTAL 476
 CEP 88.040-900 - FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA
 TEL. (0482) - 34.1000 - TELEX: 0482 240

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

CANDIDATO: *Eliézer Silva*

A partir das 8:30 horas do dia oito de setembro de mil novecentos e noventa e quatro, no Auditório do Centro de Ciências da Saúde, a Comissão Examinadora, constituída pelos Professores José Paulo de Figueiredo Drummond, Renato G.G. Terzi, Mário Sérgio Soares de Azeredo Coutinho, Marcelino Osmar Vieira e Antônio César Cavallazzi, como suplente, procedeu ao exame da Dissertação de Mestrado apresentada pelo Dr. ELIÉZER SILVA, intitulada "CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DAS RESPOSTAS AO HIDROCLORETO DE DOPEXAMINA SOBRE A ARTÉRIA MESENTÉRICA SUPERIOR ISOLADA DE COELHOS". Após explanação feita pelo candidato, o mesmo foi argüido pela Comissão Examinadora, sendo *aprovado* com os seguintes conceitos, nos termos da Resolução 005/CEPE/94 e Regimento Interno do Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna.

| NOME: | ASSINATURA | CONCEITO |
|---|------------|-------------|
| Prof. José Paulo de Figueiredo Drummond | |A..... |
| Prof. Renato G.G. Terzi | |A..... |
| Prof. Mário Sérgio S. de Azeredo Coutinho | |A..... |
| Prof. Marcelino Osmar Vieira | |A..... |
| CONCEITO FINAL: | |A..... |

Florianópolis, 8 de setembro de 1994.

Prof. José Paulo de Figueiredo Drummond
 Presidente da Comissão Examinadora