

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL

**ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DO USO DO  
AZUL DE METILENO NA OBSTRUÇÃO  
EXPERIMENTAL DO JEJUNO EM EQUINOS  
EXPOSTOS AO LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)**

Andrea Del Pilar Uribe Diaz

Orientador: Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária.

JABOTICABAL- SP

Fevereiro de 2009

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Andréa Del Pilar Uribe Diaz – nascida em Bogotá – Colômbia, filha de Yanuba Diaz de Uribe e Rafael Uribe Ospina. É Médica Veterinária formada pela Universidade De La Salle de Bogotá – Colômbia em agosto de 2001. Foi Médica Veterinária Residente do Hospital Veterinário de Grandes Animais da mesma instituição durante 2001. Realizou estágio junto ao Hospital Veterinário Governador Laudo Natel na área de Clínica Cirúrgica de Grandes Animais no ano de 2002. Mestre em Cirurgia Veterinária, em dezembro de 2004, pelo programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mésquita Filho” – UNESP, Campus de Jaboticabal, onde também foi orientada pelo Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana e co-orientada pelo Prof. Dr. Carlos Augusto A. Valadão, com trabalho de dissertação intitulado: “DESCRIÇÃO DE UMA TÉCNICA CIRÚRGICA PARA CANULAÇÃO DO CECO EM EQUINOS E AVALIAÇÃO DAS SUAS REPERCUSSÕES CLÍNICAS, HEMATOLÓGICAS E PERITONEAIS”. Em março de 2005 ingressou no curso de Doutorado pelo programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária da mesma instituição, sob o amparo do Programa Estudantes-Convênio (PEC-PG/MEC/CNPq/2005), que o Brasil mantém com o governo da Colômbia.

*Haverá na face de todos um profundo assombro  
E na face de alguns risos sutis cheios de reserva  
Muitos se reunirão em lugares desertos  
E falarão em voz baixa em possíveis milagres  
Como se o milagre tivesse realmente se realizado  
Muitos sentirão alegria[...]  
Muitos não compreenderão  
Porque suas inteligências vão somente até os processos  
E já existem nos processos tantas dificuldades  
Alguns verão e julgarão com a alma[...]*

*No meio de todos eu ouvirei calado e atento, comovido e risonho  
Escutando verdades e mentiras*

*Mas não dizendo nada*

*Só a alegria de alguns compreenderem bastará  
Porque tudo aconteceu para que eles compreendessem  
Que as águas mais turvas contêm às vezes as pérolas mais belas*

*(Vinicius de Moraes, Acontecimento)*

**DEDICO...**

*Ao meu Pai, **RAFAEL** (in memoriam),  
com sua partida só deixou saudades e bons ensinamentos.  
Serás eterno exemplo de dedicação à ciência, amor e honestidade,  
iluminas e me mostras o melhor caminho,  
Meu Anjo da Guarda...*

*À minha querida Mãe, **YANUBA**,  
amiga em todas as horas,  
modelo de amor, caráter e dignidade,  
Meu resguardo e abrigo...*

## AGRADECIMENTOS

A todos a minha gratidão e o meu reconhecimento, mas sobretudo:

A Ti Deus, por estar sempre presente e não soltar minha mão.

Aos meus pais pela luta árdua que possibilitou a minha formação.

À toda minha família pelo carinho e apoio com que sempre me senti protegida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana, exemplo de ética e dedicação, por acreditar no meu potencial desde o início. Meu respeito e admiração.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Carlos A. A. Valadão, pela confiança em mim depositada, pelo estímulo constante, pelas críticas construtivas que ajudaram no meu desenvolvimento pessoal e científico, pelo carinho e da sua esposa Inês.

A esses cavalos agradeço e ofereço perdão.

À minha amiga Claudia Momo pela transparência do seu carinho, compreensão, apoio e paciência, que ao longo desta caminhada jamais me faltaram.

Ao Renato e a Mimi Momo por terem me recebido e acolhido com tanto carinho e respeito sempre.

Aos meus grandes amigos Tavo, Lenin, Tita, Tata, Erica e David pelo carinho, cumplicidade, força e verdadeira amizade ao longo de estes anos.

Ao meu amigo Pitu, ainda que distante, pelo seu amor, apóio e sinceridade, sempre me ajudando a ser forte.

Aos meus amigos e equipe de trabalho André Escobar, Marsel de Carvalho, Luciane Laskoski e Marina Ceccato, pelas risadas e bons momentos, assim como a seriedade e comprometimento durante o experimento.

Ao Médico Veterinário José Henrique Saraiva Borges pela amizade, convívio e apoio técnico no decorrer deste projeto.

Às amigas Lina Maria W. Gomide e Adriana Helena de Souza apesar dos longos períodos de ausência, sempre estiveram presentes.

Ao amigo Paulo César da Silva pela amizade, força, atenção nos momentos difíceis e pela ajuda valiosa na revisão e ajuste estatístico deste trabalho.

Às amigas Karoll Andrea Alfonso, Cristina Hernandez e Diana Cifuentes, todas tão longe de casa, pela amizade e companheirismo sempre.

À Renata Lemos Nagib Jorge, pelo amplo apoio durante estes anos, disponibilizando a infra-estrutura do laboratório e pela sua amizade.

À amiga de todas as horas Ana Tereza Marques, sempre prestativa, alegre, e disposta a me ajudar.

Aos funcionários do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, pela colaboração valiosa nos procedimentos laboratoriais.

Ao Marcelo Batalhão pela disponibilidade e prontidão dos resultados das análises feitas na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

À Direção e Coordenação do Colégio Maria pela paciência, pelo apoio constante e pelas oportunidades que tiveram uma contribuição significativa na minha formação pessoal e profissional.

À Isabel da pós-graduação pela colaboração, paciente atenção e gentileza para resolver os imprevistos.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização e conclusão deste estudo.

A FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal, em particular ao curso de pós-graduação em Cirurgia Veterinária, por ter me acolhido e proporcionado a possibilidade de realizar este trabalho.

Ao Programa Estudantes-Convênio (PEC-PG/MEC/CNPq/2005), pela bolsa de estudos concedida.

À FAPESP pelo auxílio deste projeto.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	3
3. Material e Métodos.....	15
3.1 Animais.....	15
3.2 Delineamento Experimental.....	15
3.2.1 Indução da Endotoxemia.....	15
3.2.2 Obstrução Experimental do Jejuno.....	15
3.2.3 Grupos Experimentais.....	18
3.2.4 Intervalos de Avaliação.....	19
3.2.4.1 Avaliação Clínico-Laboratorial.....	19
3.2.4.2 Avaliação Histológica.....	19
3.3 Procedimentos.....	19
3.3.1 Avaliação Clínica.....	19
3.3.2 Avaliações Laboratoriais.....	20
3.3.3 Avaliação Histológica.....	22
3.5 Análise Estatística.....	23
4. Resultados.....	24
4.1 Avaliação Clínica.....	24
4.2 Avaliação Hematológica e Bioquímica.....	25
4.3 Análise do Líquido Peritoneal.....	26
4.4 Mensuração do Óxido Nítrico.....	27
4.5 Avaliação Tecidual.....	27
4.5.1 Avaliação Macroscópica.....	27
4.5.2 Avaliação Histológica.....	28
4.5.3 Análise Semi-quantitativa.....	29

4.5.4 Avaliação Histológica do Pulmão.....	29
5. Discussão.....	39
5.1 Avaliação Clínica.....	39
5.2 Achados Hematológicos e Bioquímicos.....	42
5.3 Análise do Líquido Peritoneal.....	44
5.4 Óxido Nítrico.....	45
5.5 Avaliação Tecidual.....	46
6. Conclusões.....	48
7. Referências.....	49

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Valores médios de tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura retal (TR) e frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	30
Tabela 2	Valores médios obtidos para contagens globais de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	31
Tabela 3	Valores médios obtidos para contagens global e diferencial de leucócitos no sangue de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	32
Tabela 4	Valores médios obtidos para constituintes bioquímico-séricos e plasmáticos em equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	33
Tabela 5	Valores médios obtidos para contagens total de células nucleadas e diferencial de leucócitos no líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	34
Tabela 6	Valores médios obtidos para constituintes bioquímicos no líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	35

Tabela 7	Valores médios obtidos para contagem global de hemácias e dos valores de gravidade específica e pH do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008 .....	36
Tabela 8	Valores médios obtidos para óxido nítrico no sangue e líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	37
Tabela 9	Média de escores para degeneração do jejuno de equinos em amostras basais (T0), após 3 horas de obstrução experimental do jejuno (T1) e após 7,5 horas de reperfusão, associada à administração do lipopolissacarídeo (LPS), após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.....	38

## **ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS DO USO DO AZUL DE METILENO NA OBSTRUÇÃO EXPERIMENTAL DO JEJUNO EM EQUINOS EXPOSTOS AO LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)**

**RESUMO** – Trabalhos recentes relatam a eficácia do azul de metileno na prevenção dos danos impostos por espécies reativas de oxigênio aos tecidos de vários órgãos, em vários modelos de isquemia/reperfusão. Este estudo foi concebido com o fito de avaliar o efeito do azul de metileno sobre as respostas clínico-laboratoriais, na obstrução experimental do jejuno em equinos, associada à exposição de lipopolissacarídeo. Dois grupos de animais foram submetidos à indução da endotoxemia e à obstrução experimental do jejuno em período anterior. Posteriormente administrou-se em um deles, infusão de azul de metileno (3 mg/kg I.V), 15 minutos antes da obstrução experimental, e no outro, a mesma infusão 15 minutos antes da desobstrução do jejuno. Foi realizada avaliação clínica, hematológica e bioquímico-sérica, e perfil bioquímico e citológico do líquido peritoneal a partir de aferições em oito tempos durante 12 horas, também foram caracterizadas as lesões intestinais. Após 3 horas de isquemia, verificou-se hemorragia, edema, infiltração de neutrófilos e desprendimento da mucosa. Essas lesões manifestaram-se predominantemente após a reperfusão, e de forma concomitante com o aumento dos componentes celulares e moleculares da inflamação, tanto no sangue quanto no líquido peritoneal. Contudo, todos os achados foram discretamente menos evidentes nos animais que receberam o azul de metileno antes da fase de reperfusão. Não é possível afirmar efeito benéfico do azul de metileno sobre a resposta dos equinos na obstrução experimental do jejuno.

**Palavras chave:** obstrução intestinal, azul de metileno, jejuno, equinos.

**CLINICAL AND LABORATORY ASPECTS OF THE METHYLENE BLUE IN  
EXPERIMENTAL OBSTRUCTION OF JEJUNUM ASSOCIATED TO THE  
EXPOSITION TO LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) IN HORSES**

**ABSTRACT** – Intestinal ischemia is one of the most serious intra-abdominal alterations and reflects extremely elevated morbidity and mortality. Reoxygenation on the ischemic tissue produces deleterious inflammatory events with consequences even more severe than the ischemia itself. Methylene blue, due to this action as an inhibitor of free-radical formation. The objective of this test was to study the effects of methylene blue on the clinical and laboratory response before and after the experimental obstruction of the jejunum, associated to the exposition of lipopolysaccharide. Two groups of animals were submitted to endotoxemia and experimental obstruction of the jejunum. After, in one group was administered, intravenously, a solution of methylene blue (3 mg/kg), immediately before the experimental obstruction, in the other group, the solution was administered immediately before interrupt the obstructive process in the intestinal segment. The horses were submitted to the evaluation of clinical signs and laboratory response during the 12 hours of study. Based on the clinical and laboratory findings we concluded that, the administration of methylene blue was not able to avoid the clinical and laboratory responses in the experimental model proposed for this study.

**Palavras chave:** intestinal obstruction, methylene blue, jejunum, horses.

## 1 INTRODUÇÃO

Poucas afecções podem desencadear um quadro tão dramático de dor como a cólica eqüina. Na maioria dos casos, a velocidade de desenvolvimento do processo clínico-patológico e o risco de exposição continuada do animal ao evento tóxico-inflamatório, acabam por requerer ações urgentes e precisas para evitar conseqüências fatais, tendo em conta que os episódios não tratados geralmente culminam em óbito (BERNAL, 1999).

Não obstante ao processo agudo severo observado nesses casos, muitas vezes, se sobrepõem distúrbios gastrointestinais secundários de repercussão sistêmica, cujas alterações metabólicas trazem danos irreparáveis, principalmente para as lamelas do casco (KRUEGUER et al., 1986).

Estudos retrospectivos relatam a grande porcentagem de óbitos em equinos acometidos por cólica quando do envolvimento de intestino delgado acompanhado de comprometimento vascular (Mc CARTHY & HUTCHINS, 1998).

Cerca de 70% dos animais acometidos podem morrer mesmo quando submetidos ao tratamento cirúrgico, em virtude das gravíssimas conseqüências cardiovasculares, neurogênicas e toxêmicas (THOMASSIAN, 2005).

O que se observa é um quadro clínico de extrema gravidade, cujos desequilíbrios orgânicos, sistêmicos evoluem rapidamente, levando o animal a morte em menos de 24 horas. A endotoxemia que se instala é devido ao comprometimento da mucosa do intestino que sofre necrose e praticamente desaparece (THOMASSIAN, 2005).

A endotoxemia está freqüentemente associada a uma alteração no balanço entre o oxigênio disponível e seu consumo. Também tem sido relatada a alteração na extração de oxigênio, não sendo a mesma em todos os órgãos. Os leitos vasculares dos órgãos comprometidos não respondem adequadamente a estímulos vasodilatadores dependentes do endotélio. Estas alterações à resposta endotelial são provavelmente decorrentes da redução na produção ou liberação do vasodilatador endógeno que é o óxido nítrico – NO (KNOBEL, 1996).

Atualmente propostas terapêuticas relacionadas à regulação na produção de óxido nítrico têm sido relatadas, incluindo benefícios clínicos com a utilização do azul de metileno (MENARDI et al., 2006).

Embora vários relatos descrevam a influência do azul de metileno como bloqueador seletivo da guanilato ciclase, inativando diretamente a produção de óxido nítrico, não existe informação sobre a resposta dos equinos à sua administração nos processos obstrutivos associados à endotoxemia.

Assim, diante do exposto, neste ensaio objetivou-se:

- Estudar os efeitos do azul de metileno sobre a resposta clínica e laboratorial em equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno, associada à exposição ao lipopolissacarídeo (LPS).
- Caracterizar as lesões teciduais no segmento intestinal afetado, ao início e ao final da fase de obstrução experimental, e 7,5 horas após a desobstrução.
- Observar possíveis lesões distantes ao segmento intestinal obstruído, avaliando histologicamente o pulmão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Embora a etiopatogenia da síndrome cólica seja muito bem conhecida e relativamente fácil de ser identificada, a etiologia é múltipla e controvertida, admitindo-se que existam condições predisponentes e determinantes para que o problema se manifeste e o cavalo apresente cólica. A primeira das condições predisponentes, reconhecida como tal pela maioria dos autores veterinários, é a própria anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal do eqüino (THOMASSIAN, 2005).

O intestino pode ser dividido de maneira morfofuncional em intestino delgado, ceco e intestino grosso. O intestino delgado por sua vez é subdividido em duodeno, jejuno e íleo, sendo este o trecho responsável pela digestão química promovida pela ação do suco entérico, produzido pelas glândulas de sua parede; suco pancreático rico em fermentos e pela bile, cuja atividade é a de emulsionar a gordura dos alimentos (FRANDSON & SPURGEON, 1992).

Muitas das características do intestino delgado do eqüino são importantes para o entendimento da ocorrência de diversos distúrbios. O jejuno mede aproximadamente 18 a 20 metros em um eqüino de 500 kg. Na sua porção oral, continua-se com o duodeno ascendente e com o íleo em sentido aboral. O jejuno encontra-se fixo por meio de um longo mesentério à parede dorsal da cavidade abdominal. Deve-se a esta particularidade a livre mobilidade dentro da cavidade, o que em alguns casos acaba em conseqüências desastrosas. O longo mesentério permite-lhe a exteriorização com relativa facilidade na laparotomia exploratória, facilitando o exame visual, ressecção e anastomose (FRANDSON & SPURGEON, 1992).

A relação entre o jejuno e o seu suprimento sangüíneo é importante para entendimento dos processos isquêmicos e na tomada de decisões cirúrgicas. Entre 15 e 20 artérias jejunais surgem da artéria mesentérica cranial e correm através do mesentério, dispostas em forma de arcadas para suprir o intestino delgado. A oclusão de uma dessas artérias provavelmente não resulte em

isquemia intestinal devido ao suprimento colateral disponível pelas anastomoses adjacentes (EDWARDS & PROUDMAN, 2002).

O jejuno também possui um complexo, mas eficiente, sistema de suprimento sanguíneo intramural. A conseqüência dessa cautelosa particularidade funcional, é que tanto vasos jejunais no mesentério como vasos intramurais deverão ser ocluídos para produzir isquemia intestinal. Uma consideração adicional é a distribuição sanguínea no jejuno, aproximadamente 80% vai para a mucosa que é considerada a parte metabolicamente ativa do intestino. Por esta razão, a mucosa intestinal é a mais afetada pela redução do fluxo sanguíneo comparado com o resto do intestino (EDWARDS & PROUDMAN, 2002).

Por sua vez, o íleo constitui a última porção do intestino delgado, com aproximadamente um metro de comprimento. Termina na junção ileocecal e é espesso à palpação quando comparado ao jejuno, devido à grossa parede muscular que possui. Histologicamente o íleo é completamente diferente do jejuno, contém numerosas células caliciformes e células com uma variedade de neuropeptídeos responsáveis pela coordenação da motilidade intestinal (FRANDSON & SPURGEON, 1992).

As obstruções intestinais continuam sendo um grande desafio para a medicina de equinos nos tempos atuais.

O desconforto abdominal é agudo com quadro doloroso severo, contínuo é incontrolável. O cavalo pateia constantemente o solo, alternando os membros anteriores, rola no chão e se apresenta excitado no início da crise, e revela-se deprimido nas fases finais. Geralmente ocorre refluxo nasogástrico espontâneo, que será mais precoce quanto mais próxima estiver à obstrução do estômago, ou quanto mais extensa for a área intestinal atingida. Convém lembrar que, em virtude da total oclusão do lúmen do intestino e da intensa perda líquida e eletrolítica para o intestino delgado ocluído, o refluxo enterogástrico será grande, podendo causar dilatação gástrica aguda e ruptura. Em razão das grandes perdas líquidas, e dos desequilíbrios eletrolítico e ácido-base que se instalam, além da intensa toxemia, o cavalo apresentará conjuntivas congestas, tempo de

preenchimento capilar quase sempre acima de seis segundos, frequência cardíaca acima de 70 bat/min, e respiratória acima de 40 movimentos por minuto. O quadro clínico se traduz por extrema gravidade, onde as depleções que o organismo sofre quanto ao aparelho cardiovascular, evoluem rapidamente, levando o animal a morte em menos de 24 horas (THOMASSIAN, 2005).

O comprometimento vascular pode ser venoso ou venoso e arterial, mas a típica lesão estará caracterizada pela oclusão venosa antes da arterial com conseqüente congestão venosa. Poucos minutos após o início da estrangulação, o segmento intestinal envolvido e seu mesentério tornam-se intensamente congestos em conseqüência da estase venosa. Se este é simultâneo à oclusão arterial, como alguns casos relatados de obstrução por lipoma pedunculado, o intestino torna-se cianótico, mas não edemaciado. Em alguns casos, a grossa parede das artérias e arteríolas resiste de tal forma a manter o bombeamento do sangue dentro das veias e vênulas distendidas. Pouco a pouco o segmento intestinal envolvido mostra-se vermelho-escuro. Quase imediatamente o endotélio vascular torna-se permeável, permitindo a difusão do plasma nos tecidos (EDWARDS & PROUDMAN, 2002).

Oitenta por cento do suprimento sangüíneo no intestino vai para a mucosa. Assim, a viabilidade da referida camada mucosa é extremamente sensível à hipóxia, e em poucos minutos a privação de oxigênio evidencia mudanças morfológicas ultraestruturais. Alterações nas células epiteliais superficiais das vilosidades são evidentes e continuam em direção às criptas. EDWARDS & PROUDMAN (2002) relataram que entre 4 a 5 horas o epitélio da mucosa encontra-se completamente necrótico. Durante 6 a 7 horas, os efeitos degenerativos decorrentes da hipóxia estendem-se à camada muscular. Assim que a barreira da mucosa é prejudicada, bactérias Gram-negativas e endotoxinas permeiam a lâmina própria e a submucosa, atingindo rapidamente a circulação sangüínea.

A síndrome clínica conhecida como endotoxemia, que ocorre subseqüentemente às desordens gastrointestinais que causam cólica (MOORE,

1988) ou devido a septicemia por bactérias Gram-negativas (KOTERBA et al., 1984; MORRIS, 1984), tem sido estudada intensamente em equinos desde a década de 70 do século passado, e tal afecção é causa determinante de morbidade e mortalidade considerável nos equinos.

Apesar da endotoxina permanecer intimamente associada à membrana externa na bactéria viva, ela é liberada quando ocorre replicação bacteriana rápida, lise ou morte do microorganismo (HENRY & MOORE, 1990; OLSON et al., 1995).

Soltas na circulação, as endotoxinas dão início a diversas injúrias nas células endoteliais e nas plaquetas. As plaquetas são imediatamente estimuladas à liberação de substâncias vasoconstritoras, tromboxanos e serotonina. Alterações no endotélio aumentam a permeabilidade vascular, e é liberada prostaciclina e os neutrófilos são estimulados especialmente nos pulmões e no lugar onde ocorreu a injúria intestinal (EDWARDS & PROUDMAN, 2002).

Com o acúmulo de informações sobre a fisiopatologia das lesões isquêmicas, difundiu-se o conceito de que a reperfusão em tecidos isquêmicos apesar de essencial para prevenir a morte celular por anóxia, produzia um efeito paradoxal de agravamento das lesões preexistentes, o que se convencionou chamar de lesão de reperfusão (FLAHERTY & WEISFELDT, 1988).

Na década de 1980, constatou-se por intermédio de estudos em animais submetidos a processos de isquemia e reperfusão experimentais que, em determinadas situações, as lesões produzidas durante o período isquêmico evoluíam com o retorno da perfusão (PARKS & GRANGER, 1986), levando a crer que na verdade parte dos resultados negativos pudesse ser atribuída ao agravamento das lesões em tecidos corretamente considerados viáveis durante o procedimento cirúrgico.

Nos equinos apesar de haver alguma controvérsia em relação à relevância da lesão de reperfusão do trato gastrointestinal, a ocorrência do agravamento das lesões durante o período de reperfusão já foi demonstrada experimentalmente no

jejuno (HORNE et al., 1994; COSTA, 2007), no cólon maior (MESCHTER et al., 1991; MOORE et al, 1994a) e no cólon menor (FALEIROS, 2003).

De modo geral a isquemia é definida como a redução ou interrupção do fluxo sangüíneo, constituindo uma das principais causas de lesão tecidual (COTRAN et al., 1994; METZE, 1998). As alterações celulares estão diretamente relacionadas à duração da isquemia e quando essa se prolonga por tempo suficiente acarreta necrose.

Particularidades anatômicas na vasculatura favorecem o desenvolvimento de hipóxia na mucosa do intestino por meio do mecanismo de contracorrente das vilosidades. O suprimento sangüíneo se dá através de uma artéria central única, localizada próximo aos capilares subepiteliais e à rede de drenagem venosa. Tal proximidade permite a difusão do oxigênio da circulação arterial para o leito capilar e a circulação venosa determinando que sua concentração no sangue que chega à extremidade das vilosidades seja reduzida. Em condições normais, essa difusão é limitada pela alta velocidade do fluxo sangüíneo, mas com o estabelecimento da isquemia ocorre redução do fluxo arterial e esse processo se intensifica e determina a redução da quantidade de oxigênio que chega a extremidade das vilosidades e a ocorrência de lesões isquêmicas (LUNDGREN & HANGLUND, 1978).

Devido à lesão de mucosa, a isquemia torna-se particularmente grave no intestino, desencadeando efeitos intensos e complexos, em decorrência da absorção de endotoxinas e da ocorrência de distúrbios hidroeletrólíticos e no equilíbrio ácido-base, que se manifestam em órgãos à distância e cujo tratamento torna-se mais difícil que a correção dos distúrbios isquêmicos ou a ressecção cirúrgica intestinal (MOORE, 1990).

Com o restabelecimento do aporte sangüíneo para o tecido, vários fatores atuam para o agravamento das lesões teciduais. Inicialmente, considerava-se que a lesão de reperfusão era causada pela produção aumentada de espécies reativas de oxigênio no tecido pós-isquêmico (PARKS & GRANGER, 1983; McCORD, 1985).

As espécies reativas derivadas do oxigênio (EROs) são moléculas que possuem um elétron não emparelhado em seu orbital externo. Devido a esta característica são altamente reativas, e podem produzir alterações celulares graves por peroxidação de lipídeos do citoplasma e da membrana celular, oxidação de proteínas e fragmentação de ácidos nucleicos. As EROs mais importantes são o superóxido ( $O_2^-$ ) e o radical hidroxil ( $OH^\cdot$ ). O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), apesar de não ser um radical, participa dos processos de síntese e liberação de  $O_2^-$  e do  $OH^\cdot$ , além de também possuir potencial nocivo, sendo por isso considerado conjuntamente com as EROs. A formação dessas moléculas constitui um processo fisiológico no organismo, durante o metabolismo aeróbio e outros processos metabólicos oxidativos. Além disso, as EROs são sintetizadas nos leucócitos e macrófagos por intermédio da ativação catalítica da enzima NADPH-oxidase em um processo conhecido como explosão respiratória, que constitui o principal mecanismo de eliminação de microorganismos fagocitados (FLAHERTY & WEISFELDT, 1988; COTRAN et al., 1994; HALLIWELL, 1994; PEREIRA, 1998).

A pesar dos efeitos nocivos, as EROs não determinam alterações celulares em condições normais, visto que sua produção ocorre em quantidades limitadas e são eliminados prontamente por meio de sistemas antioxidantes (ROCHAT, 1991; COTRAN et al., 1994; PEREIRA, 1998).

O equilíbrio entre a eliminação de EROs é fundamental para manter a integridade dos tecidos. Quando há desequilíbrios as EROs desencadeiam um processo chamado de estresse oxidativo, produzindo alterações teciduais (ROCHAT, 1991; McCORD, 1985; COTRAN et al., 1994; PEREIRA, 1998).

Além das EROs, outros fatores contribuem para a lesão de reperfusão. Com o retorno da perfusão sanguínea, desencadeia-se um aumento expressivo na atividade de vários elementos que por sua vez induzem efeitos vasoativos, predominando a vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, estímulo de agregação plaquetária e quimiotaxia para neutrófilos (COTRAN et al., 1994; MOORE et al., 1995).

A ação dos eicosanoides, do fator de agregação plaquetária e a formação de espécies reativas estimulam o acúmulo de neutrófilos no tecido pós-isquêmico. A adesão dessas células ao endotélio vascular, na microcirculação, dificulta o fluxo sanguíneo local. Além disso, os neutrófilos determinam uma segunda fase de lesão por EROs, conseqüente à produção de  $O_2$  e sua liberação no tecido. Esse radical, além de produzir alterações teciduais diretamente possibilita a formação do ácido hipocloroso pela mieloperoxidase liberada pelos neutrófilos, fato extremamente lesivo (ZIMMERMAN & GRANGER, 1992; GRANGER & KORTHUIS, 1995; INOUE et al., 1998).

O óxido nítrico também pode estar envolvido no processo de isquemia-reperfusão (IR) (COTRAN et al., 1994; GRANGER & KORTHUIS, 1995). Este gás radical livre, solúvel e de curta duração, produzido por muitos tipos celulares, é capaz de mediar uma variedade de funções. No sistema nervoso central, regula a liberação de neurotransmissores, bem como o fluxo sanguíneo. Os macrófagos o utilizam como metabólito citotóxico para destruir micróbios e células tumorais e, quando produzido pelas células endoteliais, onde foi originalmente chamado de fator de relaxamento derivado do endotélio, causa o relaxamento do músculo liso e vasodilatação (KUMAR et al., 2008).

A partir dos estudos de Furchgott e Zawadzki, foi desencadeada uma era de intensos trabalhos na década de 1980, a qual esclareceu e estabeleceu conceitos e mecanismos que envolviam o NO. Confirmou-se sua síntese a partir da L-arginina, do oxigênio molecular, da NADPH, pela enzima óxido nítrico sintase (NOS).

Foram descritas três isoformas de NOS, com diferentes distribuições nos tecidos. O tipo I (nNOS) uma NOS neuronal constitutivamente expressa, que não tem papel significativo na inflamação. Ocorre fisiologicamente sendo dependente do cálcio e do NADPH e sintetiza o NO a partir da L-arginina existente nas células endoteliais, no cérebro e nas plaquetas. O tipo II (iNOS) uma enzima induzível, presente nos macrófagos, neutrófilos, células de Kupffer, hepatócitos, miócitos cardíacos, epitélio respiratório e nas células endoteliais, induzida por várias

citocinas e mediadores inflamatórios, principalmente pela IL-1, TNF, INF- $\gamma$  e por endotoxinas bacterianas, responsável pela produção de NO nas reações inflamatórias, independentemente do cálcio. O tipo III (eNOS) uma NOS sintetizada constitutivamente, encontrada primariamente, mas não exclusivamente, no endotélio (KNOBEL, 1996).

A eNOS e a nNOS atuam por meio da calmodulina, utilizando cálcio e produzindo NO em pequenas quantidades e com efeito transitório. Esse efeito transitório está relacionado com as alterações fisiológicas que ocorrem constantemente na circulação. O fluxo pulsátil propicia a liberação da eNOS e formação de NO com a conseqüente incorporação ao conteúdo circulatório. Mediante esse mecanismo, o fluxo na circulação coronária aumenta varias vezes durante o esforço físico em relação ao de repouso.

A liberação de NO, por meio da NOS e da eNOS, exerce efeito protetor no choque séptico, melhorando o tônus vascular, prevenindo, portanto, uma vasoconstrição excessiva periférica e uma diminuição do fluxo (que ocorreria na ausência de produção de NO), a despeito de concentrações elevadas de diversas substâncias vasoconstritoras (KNOBEL, 1996).

Sabe-se que o NO obtido a partir da ação da NOS sobre a L-arginina, atua na musculatura lisa dos vasos, ativando a guanilato ciclase solúvel e desencadeando uma reação que culmina na liberação de GMP cíclico, com conseqüente diminuição dos depósitos de cálcio intracelular e relaxamento deste tecido (KUMAR et al., 2008).

Estudos experimentais demonstram que a inibição da síntese do NO pelos análogos da L-arginina, revertem a hipotensão e antagonizam os efeitos dos vasocronstritores liberados durante os quadros de sepse e anafilaxia. Entretanto, é importante enfatizar que os análogos da L-arginina inibem as isoformas, constitutiva e induzível da NO sintase. O ideal seria a inibição especifica da NO sintase induzível, responsável pelas reações vasoplégicas preservando as atividades da NO sintase constitutiva, a qual é de vital importância para a fisiologia

da microcirculação. A atuação na síntese do NO ainda é uma questão controversa, e até mesmo um assunto de bioética (KUMAR, 2008).

Segundo RAKESTRAW et al. (1996), no intestino o NO produz inibição da motilidade por meio da inervação nitrérgica, mas sua função principal nos tecidos consiste na regulação do fluxo sangüíneo por intermédio do relaxamento da musculatura vascular, além de reduzir a adesibilidade de neutrófilos ao endotélio vascular, inibir a formação de microtrombos e agonizar o vasoespasma produzido por substâncias vasoconstritoras (BRYANT & ELLIOTT, 1994; WONG & BILLIAR, 1995).

Na inflamação, a síntese de NO é aumentada pela ativação da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS), e então este passa a exercer efeitos indesejáveis mediante a interferência na regulação da circulação local e sistêmica ou da produção de moléculas altamente reativas como os radicais hidroxil e dióxido de nitrogênio e o ânion peroxinitrito (COTRAN et al., 1994; WONG & BILLIAR, 1995).

Contudo KUBES (1993) e MUELLER et al. (1994) demonstraram que o NO atenúa a injúria de reperfusão no intestino delgado, e segundo LI et al. (1996) esse atenua a lesão de reperfusão no miocárdio. WHITE (1995) considerou que o papel do NO na injúria de reperfusão intestinal ainda é controverso.

Na tentativa de inibir os efeitos do óxido nítrico, considerando que este importante mediador, além de participar na acentuada vasodilatação sistêmica com reduzida resposta a estímulos vasoconstritores na endotoxemia, em termos de microcirculação, promove focos de vasoconstricção inapropriada, levando a hipóxia regional, mesmo na presença da referida vasodilatação sistêmica e de hipotensão, foi avaliada por PREISER et al. (1995) a administração de azul de metileno a pacientes sépticos.

O azul de metileno é um corante orgânico redox fenotiazínico descoberto por Heinrich Caro em 1876, que inicialmente ganhou prestígio como corante citológico, e como indicador de óxidoredução (SCOTTI et al., 2006).

O azul de metileno foi apontado originalmente como eliminador da produção de superóxidos e foi descrito seu uso na lesão por reperfusão por McCORD & FRIDOVICH (1970), mais tarde por KELNER et al. (1978).

Há descrições do uso do azul de metileno no tratamento da tuberculose urinária, da intoxicação por cianida, metahemoglobinemia, da intoxicação por nitrito e das infecções do trato urinário (SALARIS et al., 1991).

A produção aumentada de NO tem papel estratégico no desenvolvimento do choque séptico. KEANEY Jr et al. (1994) avaliaram o efeito do azul de metileno no choque séptico induzido pela administração de lipopolissacarídeos em coelhos, e constataram, que o mesmo reverte a hipotensão causada pela ação das endotoxinas.

ZHHANG et al. (1995) examinaram varias doses de azul de metileno na alteração do fluxo sangüíneo e da viabilidade tecidual na circulação mesentérica renal e femoral em cães submetidos a choque endotóxico. Estudos *in vitro* de isquemia, seguida de reoxigenação demonstraram que o azul de metileno é efetivo na prevenção dos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio, ao fígado e aos rins (SALARIS et al., 1991).

GALILI et al. (1998) investigaram os efeitos do azul de metileno na lesão pulmonar causada pela reperfusão após isquemia intestinal. Notaram que, após uma hora de oclusão da artéria mesentérica cranial, a reperfusão induziu à lesão pulmonar, caracterizada por edema intersticial e alveolar, além de seqüestro de neutrófilos. Concluíram que o azul de metileno atenuou tais lesões, com efeito protetor, no tecido pulmonar.

WEINBROUN et al. (2002) avaliaram os efeitos do azul de metileno na avaliação da deteriorização metabólica e hemodinâmica decorrente da isquemia e reperfusão. Compararam a infusão de metileno em varias doses por meio da via intra-traqueal e intra-peritoneal, as alterações era verificadas pela dosagem da pressão sangüínea, gasometria e medida do nível da xantina-oxidase e xantina-desidrogenase. Relataram a capacidade dose-dependente do azul de metileno em conter o desenvolvimento dos efeitos deletérios após isquemia e reperfusão e da

similaridade de ambas as vias de administração. Consideram ser o azul de metileno, componente já estabelecido clinicamente como gerador da inibição da geração de espécies reativas de oxigênio. Adicionalmente, tem efeito vasoconstritor, pois antagoniza os efeitos do óxido nítrico no relaxamento da musculatura lisa vascular, pelo bloqueio dos sítios de ligação do óxido nítrico e guanilato ciclase.

O azul de metileno foi considerado e utilizado inicialmente, *in vitro*, como bloqueador seletivo da guanilato ciclase em tecido muscular liso. Está claro atualmente que também inibe a óxido nítrico sintase e inativa diretamente o NO (COLLARES & VINAGRE, 2003).

ILHAM et al. (2003) determinaram os efeitos do anticorpo monoclonal anti-ICAM-1 do alopurinol e do azul de metileno na lesão por isquemia/reperfusão intestinal. O ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*) é um importante mediador na adesão de neutrófilos ao endotélio vascular. Presente na superfície das células endoteliais num grau moderado pode ser fortemente aumentado em um curto período pelas citocinas. Verificaram as alterações histopatológicas, o nível de TNF- $\alpha$  e a atividade da mieloperoxidase nos ratos submetidos à isquemia/reperfusão intestinal. Concluíram nesse estudo que, a aplicação de alopurinol e do ICAM-1, atenuou o efeito da isquemia/reperfusão, porém, ainda não se sabe ao certo qual o melhor momento de aplicação dos produtos, nem o tempo de duração da isquemia. O azul de metileno não foi capaz de prevenir ou atenuar a lesão tissular intestinal. Os autores sugeriram novos estudos com doses diferentes para confirmação ou não de tais resultados.

Nos últimos anos, tem sido relatado o uso do azul de metileno em várias outras especialidades da medicina veterinária, como um dos agentes mais seguros é amplamente empregado em clínica, desde o final do século XIX (MENARDI et al., 2006), como tratamento da pancreatite aguda em suínos (MEIRELES Jr, 2004), e do choque anafilático em coelhos (BUZATO, 2004), como tratamento preventivo da peritonite fibrinosa em cadelas submetidas à ovariectomia (SILVA et al., 2007), em estudos hemodinâmicos da função

endotelial de suínos saudáveis (MENARDI et al., 2006), como pré-tratamento no fenômeno de retardo do esvaziamento gástrico em ratos (COLLARES & VINAGRE, 2006), entre outros, mas nenhum estudo completo que nos forneça informações concretas de seu uso e efeitos nos equinos.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados 8 equinos machos castrados, sem raça definida, adultos hígidos, com idades variando entre 4 e 8 anos, pesando entre 340 e 400 kg e com escore corporal de 3 a 4 em uma escala de 1 a 5 segundo SPEIRS (1997). Os equinos foram mantidos por 15 dias em piquete coletivo com suplementação à base de feno de *Coast cross (Cynodon dactylon)*, ração comercial, sal mineral e água *ad libitum*. Em etapa anterior ao início do experimento os animais foram submetidos ao exame físico, hematológico e bioquímico-sérico. Após esse período foram distribuídos dentro de diferentes grupos experimentais<sup>1</sup>.

#### **3.2 Delineamento Experimental**

##### **3.2.1 Indução da Endotoxemia**

Após doze horas de jejum sólido os animais foram levados ao tronco de contenção e a endotoxemia foi induzida nos dois grupos pela administração intravenosa de lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli* 055:B5 (Sigma), na dose de 50 ng/kg diluída em 50 ml de solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%, infundida lentamente durante 30 minutos. Esse procedimento foi efetuado sempre no período da manhã, entre 7:30 e 8:00 horas. Os parâmetros obtidos de cada animal na primeira colheita, antes da administração da endotoxina, foram considerados como dados basais de cada grupo experimental (T0 - tempo zero).

##### **3.2.2 Obstrução Experimental do Jejuno**

Uma hora e trinta minutos após a indução da endotoxemia, os animais foram trazidos de volta para o tronco de contenção, em sala climatizada, e

---

<sup>1</sup> Processo nº 12471-07 da comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da FCAV/UNESP-Jaboticabal

sedados com cloridrato de acepromazina<sup>2</sup> 1% (0,02 mg/kg, I.V.) e quinze minutos depois foram aplicados 0,44 mcg/kg de cloridrato de detomidina<sup>3</sup> I.V.

Após antissepsia com iodo povidine degermante e álcool iodado, procedeu-se à anestesia local infiltrativa em “L” invertido (TURNER & McILWRAITH, 1982), na fossa sublombar esquerda. A primeira linha de infiltração foi realizada 3 cm abaixo dos processos transversos das vértebras lombares, de forma paralela ao plano da coluna vertebral e com 8 a 10 cm de comprimento. A outra linha de infiltração de anestésico, de 10 a 13 cm de comprimento, foi aplicada a 2 cm da 18ª costela em sentido caudal e de forma paralela. Foram utilizados 4 mg/kg de cloridrato de lidocaína<sup>4</sup> com vasoconstritor a 2%. O anestésico local foi infundido no tecido subcutâneo, bem como nos planos musculares mais profundos. Decorridos 15 minutos, realizou-se anti-sepsia do campo operatório e foi colocado um pano de campo fenestrado no local. Imediatamente antes da incisão de pele, foram aplicados 2 mg/kg de cloridrato de tramadol<sup>5</sup>, por via intravenosa (IV). Foi realizada uma incisão de 6 a 8 cm entre a tuberosidade ilíaca, 18ª costela e a 3 cm ventralmente ao músculo longo dorsal, abrangendo a pele, tela subcutânea, músculos oblíquos externo e interno do abdômen, músculo transverso do abdome e peritônio, em um único plano, empregando-se lâmina de bisturi nº 22. A hemostasia foi realizada por meio de pinças Kelly, com as quais praticou-se angiotripsia dos vasos de menor calibre. Nos vasos de maior diâmetro procedeu-se a ligadura por meio de fio de categute cromado nº 0<sup>6</sup>. Na seqüência, introduziu-se a mão na cavidade abdominal, identificou-se a porção final do intestino delgado por palpação, subsequente mediante tração, exteriorizou-se o órgão (URIBE, 2004).

Uma vez identificada a prega íleo-cecal, foram percorridos 30 cm em sentido oral. A partir desse ponto isolou-se um segmento de aproximadamente 30 cm para aplicação da obstrução experimental. As extremidades do segmento

---

<sup>2</sup> Acepran 1% - UNIVET S/A – Ind. Veterinária - SP

<sup>3</sup> Dormium V – União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu - SP

<sup>4</sup> Xylestesin 2% com vasoconstritor – Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Itapira – SP

<sup>5</sup> Dorless – União Química Farmacêutica Nacional S/A, Embu-Guaçu - SP

<sup>6</sup> ETHICON – Johnson e Johnson Produtos Profissionais, São José dos Campos – SP

foram aproximadas e uma ligadura firme foi feita com dreno de Penrose nº3, aplicada ao redor de modo a ocluir a irrigação mesentérica, resultando em uma laçada estrangulante e determinando assim o modelo experimental de obstrução seguido neste estudo. Posteriormente o segmento exposto foi reposicionado na cavidade peritoneal e a parede abdominal foi suturada, em planos, por meio de padrão simples contínuo com fio de náilon calibre 0,60.

Ao término da sutura lavou-se o campo operatório com solução salina fisiológica. Subseqüentemente, fixou-se sobre a ferida, por meio de sutura com fio de náilon nº 45, uma proteção composta por compressas de gaze estéreis embebidas em solução de sulfato de neomicina<sup>7</sup> a 10%. Ao redor da ferida foi aplicada uma mistura de óxido de zinco e permetrina<sup>8</sup>, para exercer ação repelente.

O período de obstrução experimental foi de 3 horas, após este período os animais voltaram ao tronco de contenção e foi abordada novamente a cavidade abdominal utilizando-se a via de acesso inicial. Os animais foram sedados com maleato de acepromazina, 0,22 mg/kg, IV, e quinze minutos após aplicaram-se 0,44 mcg/kg de cloridrato de detomidina, IV. Realizou-se a retirada do curativo, procedendo-se à lavagem da pele adjacente à incisão com solução salina fisiológica e sabão neutro. Na seqüência, foi realizada anti-sepsia do campo operatório. Procedeu-se à anestesia local infiltrativa com 20 mL de cloridrato de lidocaina, com vasoconstritor a 2%, nos bordos da ferida cirúrgica, e foram aplicados 2 mg/kg de cloridrato de tramadol I.V., e, em ato contínuo, desfz-se a sutura anteriormente aplicada e abordou-se a cavidade abdominal. Mediante palpação identificou-se o segmento obstruído expondo-o cuidadosamente e procedeu-se a desfazer a ligadura cortando o dreno com tesoura, liberando-se a porção do intestino delgado determinada para estudo. Posteriormente o segmento obstruído foi reposicionado na cavidade peritoneal e a parede abdominal foi suturada, em planos, por meio de padrão simples contínuo com fio de nylon

---

<sup>7</sup> Neocolin – Vansil Laboratório Veterinário, Descalvado – SP

<sup>8</sup> Ungüento Plus – Europharma Laboratórios Ltda, Rio de Janeiro - RJ

calibre 0,60. Finalmente, foi realizado curativo local e aplicou-se pomada repelente ao redor da ferida cirúrgica. (URIBE, 2004).

Após 7,5 horas de reperfusao, completando 12 horas de estudo, foi realizada a eutanasia dos animais. Para tal efeito, foram pre-medicados com 2 mg/kg de xilazina<sup>9</sup> pela via intravenosa. Aguardou-se um periodo (mínimo) de 15 minutos e os animais foram induzidos a anestesia dissociativa com cetamina<sup>10</sup> na dose de 4 mg/kg pela via intravenosa. Imediatamente apos a indução, foi realizada a administração 800 mg totais de lidocaína 2% no espaço intratecal, entre as vértebras cervicais C1 e C2, (com um cateter intravenoso 14G), sendo essa via confirmada através de fluxo positivo de líquido cefalorraquidiano (LCR) pela agulha. Considerou-se o óbito do animal mediante confirmação da interrupção da atividade cardio-respiratória.

### **3.2.3 Grupos Experimentais**

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais:

a) Grupo GLA (Grupo LPS - Azul de metileno): Nos 4 animais deste grupo inicialmente foi induzida a endotoxemia, uma hora e quinze minutos depois os animais receberam uma solução de azul de metileno, na dose 3 mg/kg, I.V, por 15 minutos, e após este procedimento foi realizada a obstrução experimental do jejuno. Decorridas três horas da administração do azul de metileno, uma solução de cloreto de sódio a 0,9% (solução salina) foi administrada por via intravenosa, em volume equivalente ao volume da solução de azul de metileno, e quinze minutos depois, procedeu-se a desfazer a obstrução.

b) Grupo GLS (Grupo LPS - Salina): Nos 4 animais deste grupo inicialmente foi induzida a endotoxemia, uma hora e quinze minutos depois foi administrada solução de cloreto de sódio a 0,9% (solução salina), I.V, por 15 minutos, e imediatamente após este procedimento foi realizada a obstrução experimental do

<sup>9</sup> Coopazine 2% - Schering-Plough, Cotia – SP - Brasil

<sup>10</sup> Ketamin – Cristália Produtos Químicos e Farmacéuticos Ltda., Itapira – SP - Brasil

intestino delgado. Decorridas três horas da administração da solução salina, uma solução de azul de metileno, na dose de 3 mg/kg, foi administrado por via intravenosa, em volume equivalente ao volume da solução salina e quinze minutos depois desfez-se a obstrução.

### **3.2.4 Intervalos de Avaliação**

#### **3.2.4.1 Avaliação Clínico-Laboratorial**

Os parâmetros clínicos e laboratoriais foram avaliados imediatamente antes da indução da endotoxemia (T0) e 1,5 horas após indução HAI (T1); 4,5 HAI (T2); 6 HAI (T3); 7,5 HAI (T4); 9 HAI (T5); 10,5 HAI (T6) e 12 HAI (T7).

#### **3.2.4.2 Avaliação Histológica**

Foram colhidas amostras intestinais no segmento experimental em período imediatamente anterior à obstrução (T0); ao final da obstrução (T1) e 6 horas após reperusão (T2).

### **3.3 Procedimentos**

#### **3.3.1 Avaliação Clínica**

As variáveis clínicas avaliadas em cada tempo foram: frequência cardíaca (FC, batimentos/min.) por meio de auscultação com estetoscópio; frequência respiratória (FR, movimentos/min.) por observação da movimentação do gradil costal durante a inspiração e expiração; temperatura retal (TR, °C) por meio de termômetro clínico convencional; e tempo de preenchimento capilar (TPC, seg.) por compressão da mucosa gengival, determinando-se o tempo em segundos para o desaparecimento da impressão digital.

Também foram avaliadas a coloração das membranas mucosas conjuntival e oral, atitude e postura ao decorrer do período experimental.

As mucosas orais foram classificadas, de acordo com sua coloração em: rósea pálida, rósea (normal), levemente congesta, congesta, congesta vermelho tijolo com presença de halo toxêmico e cianóticas.

### **3.3.2 Avaliações Laboratoriais**

As amostras foram coletadas por venopunção jugular, utilizando-se o sistema de colheita a vácuo<sup>11</sup> e acondicionados em tubos com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético di-sódico) para a realização de hemograma e determinação das proteínas totais (PT); fluoreto de sódio para dosagem de glicose; heparina para dosagem de óxido nítrico. Amostras coletadas em tubos sem anticoagulante foram utilizadas para determinação da atividade da enzima creatina quinase (CK).

As amostras do líquido peritoneal foram coletadas por médio de abdominocentese, com a utilização de uma cânula mamária estéril, onde acoplou-se uma seringa de 20 ml para aspiração do líquido peritoneal, e posterior transferência deste para tubos a vácuo contendo solução anticoagulante EDTA para qualiquantificação citológica, fluoreto de sódio para dosagem de glicose. Amostras coletadas em tubos sem anticoagulante foram utilizadas para dosagem da atividade da enzima CK.

Para a contagem de hemácias, leucócitos e células nucleadas (líquido peritoneal) procedeu-se à diluição<sup>12</sup> das amostras e, em seguida, à contagem em um contador automático de células<sup>13</sup>. As contagens diferenciais dos leucócitos e células nucleadas foram conduzidas em esfregaços corados com uma mistura de Metanol, May-Grunwald e Giemsa. A partir das contagens diferenciais, os valores percentuais foram multiplicados pela contagem total de leucócitos para a determinação das concentrações absolutas dos diversos leucócitos. O volume globular foi determinado pela técnica do microhematócrito. O teor de hemoglobina

---

<sup>11</sup> BD Vacutainer™, BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions, UK

<sup>12</sup> DA500 – CELM Cia Equip. Labort, Modernos, Barueri – SP

<sup>13</sup> CC510 – CELM Cia Equip. Labort, Modernos, Barueri – SP

foi obtido por meio de “kit” comercial para hemoglobina<sup>14</sup> e a leitura efetuada por meio de um sistema de analisador automático<sup>15</sup>.

Para a análise bioquímica, as amostras de soro, plasma e líquido peritoneal foram separadas após centrifugação (1.500 X g, 10 minutos), alíquotadas, congeladas e estocadas à temperatura de 20 °C negativos. O teor de PT foi determinado pelo método de biureto<sup>16</sup>, a atividade da enzima CK pelo método IFCC<sup>17</sup> e as concentrações de glicose pelo método de Bondar & Mead modificado<sup>18</sup> utilizando-se conjunto de reagentes comerciais. A concentração de fibrinogênio plasmático e do líquido peritoneal foi estimada pelo método de precipitação pelo calor e realizou-se a leitura por meio de refratometria (MILLAR, et al., 1971). As leituras das análises para obtenção dos resultados finais foram conduzidas em espectrofotômetro semi-automático com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste<sup>19</sup>. A densidade do líquido peritoneal foi medida por meio de refratometria<sup>20</sup> e o pH foi mensurado por meio de fitas indicadoras de pH<sup>21</sup>.

As análises hematológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV/UNESP.

A dosagem de óxido nítrico (NO) foi realizada pelo método Nitrato/Nitrito, a partir de amostras de sangue colhidas em tubos estéreis contendo heparina sódica, centrifugadas a 1500 x g por 10 minutos e o plasma sobrenadante foi coletado, alíquotado e estocado em tubos de polipropileno em freezer - 70 °C até serem analisadas para a concentração de NO.

A dosagem dos níveis de NO plasmático foram determinadas utilizando-se o método de quimiluminescência. Uma alíquota de cada animal foi descongelada em temperatura ambiente e em local escuro durante 20 a 30 minutos. O volume

---

<sup>14</sup> Hemoglobina – LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG

<sup>15</sup> Labquest® Bio 2000 – LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG

<sup>16</sup> Ensaio cinético em Ultravioleta – Biureto, LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG

<sup>17</sup> CK-NAK Liquiform, ensaio cinético colorimétrico – LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG

<sup>18</sup> Glicose HK Liquiform, ensaio cinético em ultravioleta - LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG

<sup>19</sup> Labquest® Bio 2000 – LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG

<sup>20</sup> Refratômetro modelo P2-NE – ATAGO.CO. LTD, Tóquio – Japão

<sup>21</sup> pH Universal Indikator strips (0-14), Merck & Co., Inc, NJ – USA

de 50 µL de cada amostra foi transferido para tubos de polipropileno e desproteinizada pela adição de 100 µL de etanol. A solução foi homogeneizada e deixada em descanso durante 30 minutos no freezer a - 20 °C. Mais tarde, as amostras foram centrifugadas a 10000 X g durante 5 minutos a temperatura de 25 °C, e o sobrenadante foi retirado para realização imediata da medida do nitrito. A medida da concentração do NO foi realizada utilizando um sistema de detecção eletroquímica de NO<sup>22</sup>.

As dosagens de óxido nítrico foram realizadas no Laboratório da Escola de Enfermagem da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

### **3.3.3 Avaliação Histológica**

Foram colhidas amostras intestinais no segmento experimental em período imediatamente anterior à obstrução; ao final da obstrução e 6 horas após reperfusão. Ao final desse período também foram colhidas amostras de pulmão, fígado, rim, baço, cérebro e coração. As amostras de tecido intestinal foram constituídas de fragmentos de intestino com aproximadamente 4 x 3 cm, colhidos da borda anti-mesentérica por meio de corte com tesoura, abrangendo todas as camadas. Após a remoção de cada fragmento, a incisão foi suturada com poliglactina 910 (00), em padrão simples contínuo seguido de sutura invaginante do tipo Cushing.

As amostras intestinais e dos outros órgãos foram imediatamente fixadas em solução de formalina tamponada a 10% e, posteriormente, processadas segundo técnicas rotineiras de inclusão em parafina, cortadas em micrótomo a cinco micrômetros, coradas pela Hematoxilina e Eosina (LUNA, 1968) e examinadas em microscópio de luz.

No fragmento de tecido jejunal, foram utilizados como parâmetros semi-quantitativos escores para descamação epitelial, edema, hemorragia, infiltração de neutrófilos e deposição de fibrina na mucosa, na submucosa edema, hemorragia, infiltração de neutrófilos e distensão de vasos linfáticos, na muscular edema,

---

<sup>22</sup> MO ANALIZER SIERVER

hemorragia, distensão de vasos linfáticos e degeneração e na serosa edema, hemorragia, infiltração de neutrófilos, distensão de vasos linfáticos e deposição de fibrina, adaptando-se o preconizado por FALEIROS et al. (2001). Na serosa e na muscular também foram utilizados escores para distensão de vasos linfáticos e deposição de fibrina, com base em método adotado por DABARAINER et al. (2001).

### **3.5 Análise Estatística**

Os dados obtidos para as avaliações clínica e laboratorial, nos diferentes grupos experimentais, foram submetidos à análise de variância pelo Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com parcelas subdivididas por intermédio do programa GENES<sup>23</sup>, seguida da comparação das médias pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Para comparação entre os grupos foi utilizado o teste t ( $p \leq 0,05$ ).

Os parâmetros clínicos (atitude e coloração das mucosas) foram apresentados de forma descritiva.

Para as avaliações histológicas, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância em blocos ao acaso, utilizando-se o mesmo programa, e as médias submetidas ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) para comparação nos diferentes momentos em um mesmo grupo. Para comparação entre os grupos foi utilizado o teste t ( $p \leq 0,05$ ).

---

<sup>23</sup> GENES Aplicativo Computacional em Genética e Estatística for Windows Versão 0.0 – 2007

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Avaliação Clínica

A medicação pré-anestésica e a anestesia local pelo flanco mostraram-se eficientes para a exposição e manipulação do segmento do jejuno, não sendo observadas reações, por parte dos animais, que comprometessem a realização adequada da cirurgia.

Decorridos 60 minutos da aplicação de LPS, todos os animais apresentaram-se deprimidos e inapetentes. No GLA sinais de dor abdominal moderada e contínua foram evidentes 2 horas após a obstrução experimental do jejuno, sendo mais intensas na fase de reperfusão, e, mantiveram-se até o final do período experimental. Os animais desse grupo apresentaram inquietação, movimentos de cavar com os membros anteriores, deitaram e rolaram discretamente no chão. No mesmo grupo foi necessária a passagem da sonda nasogástrica 3 horas após a desobstrução, por intermédio da qual foram evacuados em média, 10 L de refluxo gastrointestinal. A sonda nasogástrica foi mantida até o final do período de estudo, sendo evacuadas pequenas quantidades de refluxo de forma intermitente.

Por sua vez, nos animais do GLS, os sinais de dor abdominal foram mais leves entre 2 horas após a realização da obstrução até o início da fase de reperfusão, restringindo-se a alternância no apoio dos membros pélvicos, sendo que depois de referido período comportaram-se normalmente.

Congestão das membranas mucosas, foi observada em todos os animais do GLA a partir da fase de reperfusão, no GLS 3 animais apresentaram congestão a partir do mesmo período, retornando à coloração normal 1,5 horas após (6 HAI).

Elevação da FC ocorreu a partir das 6 HAI nos animais do GLA e das 9 HAI naqueles do GLS em comparação aos valores basais ( $p \leq 0,05$ ), contudo não houve diferença significativa entre os grupos estudados.

Foi observada diferença significativa na  $f$  às 9 HAI quando comparados os grupos.

A TR elevou-se no GLA a partir das 6 HAI e no GLS a partir das 7,5 HAI em confrontação com os valores registrados no início do experimento ( $p \leq 0,05$ ). Às 6 HAI foi observada diferença significativa entre os grupos.

Aumento do TPC observou-se às 12 HAI no GLA em relação aos valores basais.

As médias da FC, FR, TR e TPC estão apresentadas na Tabela 1.

#### **4.2 Avaliação Hematológica e Bioquímica**

A análise laboratorial do sangue periférico evidenciou aumento no número de hemácias nos animais do GLA, a partir das 9 HAI, em comparação ao tempo inicial, sendo que às 12 HAI houve diferença, quando comparados os grupos. Os teores de hemoglobina e o volume globular mantiveram-se estáveis até as 10,5 HAI nos animais do GLA e até as 12 HAI no GLS, em relação ao tempo inicial, ocorrendo diferença do volume globular às 4,5; 6; 7,5 e às 12 HAI quando comparados os grupos. As médias dos valores de hemoglobina, volume globular e contagens globais de hemácias estão apresentadas na Tabela 2.

Registraram-se variações no número de leucócitos totais, ocorrendo uma diminuição significativa nos animais dos dois grupos 1,5 HAI em relação ao momento inicial. Aumento no número de neutrófilos segmentados ocorreu a partir das 9 HAI nos animais do GLS em relação ao T0. Diminuição no número de linfócitos nos animais do GLS registrou-se a partir das 7,5 HAI em relação ao tempo inicial. Observou-se aumento no número de eosinófilos no GLA, às 6 HAI em relação aos valores registrados no início do estudo. Identificaram-se diferenças entre os grupos com relação ao número de neutrófilos bastonetes às 4,5 HAI, e às 9 HAI de eosinófilos. Os valores médios obtidos para as contagens de leucócitos totais, neutrófilos bastonetes e segmentados, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos no sangue dos animais dos grupos GLA e GLS, estão apresentados na Tabela 3.

Verificou-se redução na concentração plasmática das proteínas totais das 4,5 às 7,5 HAI nos animais do GLS em comparação aos valores iniciais.

Observaram-se variações na atividade da enzima CK e nos níveis de fibrinogênio plasmático a partir das 7,5 HAI no GLA e das 9 às 10,5 HAI no GLS em relação ao tempo inicial. Foram identificadas diferenças quando comparados os grupos na atividade da CK das 6 até as 9 HAI; na concentração das proteínas plasmáticas totais desde o início do estudo e às 1,5; 4,5; 6 e 10,5; e nos níveis de fibrinogênio plasmático ao longo do período experimental. Não foram identificadas variações nas taxas de glicose plasmática nos diferentes grupos. Os valores médios obtidos para as diferentes características bioquímico-séricas estão apresentados na Tabela 4.

### **4.3 Análise do Líquido Peritoneal**

As colheitas de líquido peritoneal ocorreram sem complicações em todos os animais, sendo necessário, às vezes, a manipulação da sonda mamária movimentando-a para dentro e para fora, de forma a permitir a drenagem do líquido. Os volumes obtidos foram suficientes para realização de todas as análises propostas. Não foram observadas quaisquer complicações na técnica.

Na análise do líquido peritoneal foram observadas variações nas contagens de células nucleadas totais e de monócitos a partir das 4,5 HAI, em ambos os grupos, no GLS ainda verificou-se aumento no número dos neutrófilos segmentados a partir do mesmo momento. Foram observadas diferenças no número de eosinófilos às 7,5 HAI e no número de linfócitos às 10,5 HAI quando comparados os grupos. Não foram identificadas variações nas contagens de basófilos, eosinófilos e neutrófilos bastonetes em relação aos valores iniciais. As alterações citológicas do líquido peritoneal estão apresentadas na Tabela 5.

Observou-se aumento na concentração das proteínas totais peritoneais nos dois grupos a partir das 4,5 HAI em relação ao tempo inicial. A atividade da CK apresentou aumento nos dois grupos a partir das 1,5 HAI em relação ao T0. Foi observada diferença na concentração de fibrinogênio às 1,5 HAI, quando comparados os grupos.

A taxa de glicose peritoneal não apresentou alterações ao longo do estudo, em nenhum dos grupos. As análises bioquímicas do líquido peritoneal estão apresentadas na Tabela 6.

Com relação às contagens de hemácias no líquido peritoneal foi observado aumento a partir das 4,5 HAI nos dois grupos em relação ao tempo inicial, assim como da gravidade específica do líquido, sendo observadas diferenças às 7,5; 9; e 10,5 HAI, quando comparados os grupos. Foram também identificadas diferenças no pH do líquido peritoneal às 1,5; 4,5; 7,5 e 12 HAI, quando comparados os grupos.

As contagens globais de hemácias, bem como os valores de pH e da gravidade específica do líquido peritoneal estão apresentados na Tabela 7.

#### **4.4 Mensuração do Óxido Nítrico**

Os valores obtidos para concentrações de óxido nítrico no sangue e no líquido peritoneal não apresentaram alterações significativas ao longo do ensaio e estão apresentados na Tabela 8.

#### **4.5 Avaliação Tecidual**

##### **4.5.1 Avaliação Macroscópica**

Ao final do período de obstrução (T1), os animais dos dois grupos experimentais apresentaram coloração de algumas áreas da serosa, do segmento obstruído, que variou de arroxeadas a pálidas e distensão dos vasos do mesentério. No local onde se aplicou o estrangulamento por meio do dreno, foi observada coloração pálida, evidenciando sinais de isquemia. Alguns minutos após a retirada do dreno, iniciou-se o restabelecimento da irrigação, retornando à sua coloração normal.

No momento da colheita da amostra do segmento obstruído (T1), observaram-se parede intestinal espessa e extravasamento de grande quantidade

de sangue, e mucosa avermelhada. A parede intestinal apresentou-se espessa sugerindo a presença de edema.

Sete horas e meia após desfeita a obstrução, os animais do grupo GLA apresentaram a mucosa do segmento obstruído de coloração vermelho-escuro e deposição de grande quantidade de fibrina. Já, nos animais do GLS a mucosa apresentou-se vermelho-clara e deposição de pouca a moderada quantidade de fibrina.

Em todos os animais do GLA foram observadas petéquias no mesentério.

Nos dois grupos verificaram-se, 7,5 horas após a desobstrução, lesões da serosa como coágulos e áreas hemorrágicas, não só no segmento obstruído como em toda a extensão do intestino delgado. Ao corte, observou-se, ainda, edema da submucosa sendo mais evidente nos animais do GLA.

#### **4.5.2 Avaliação Histológica**

As lesões teciduais ocorreram principalmente nas camadas mucosa e submucosa em ambos os grupos. Na análise quantitativa da mucosa observou-se hemorragia de moderada a severa nos animais do GLA e de leve a moderada naqueles do GLS.

Nos dois grupos observou-se desprendimento do epitélio da mucosa, sendo que nos animais do GLA também houve desprendimento do epitélio das criptas com degeneração e necrose progressivas da lâmina própria.

A infiltração de neutrófilos e a deposição de fibrina na mucosa foram observadas nos dois grupos, porém com menor intensidade no GLS.

Na submucosa observou-se a presença de edema, hemorragia, infiltração de neutrófilos e distensão de vasos linfáticos, sendo que nos animais do GLS o edema foi mais intenso e, por outro lado, a hemorragia no GLA foi mais evidente.

Na camada muscular o acúmulo de neutrófilos foi intenso no GLS e no GLA observou-se maior grau a degeneração da camada muscular.

Na serosa do GLS observaram-se hemorragia de moderada a intensa, acúmulo intenso de neutrófilos, edema e deposição de fibrina, no GLA hemorragia e edema menos intenso foram encontrados.

A medias dos escores para classificação das lesões no jejuno estão apresentadas na Tabela 9.

#### **4.5.3 Análise Semi-quantitativa**

Não houve alterações significativas na submucosa de ambos os grupos. As lesões foram detectadas nas camadas mucosa, muscular e serosa. Hemorragia e infiltração de neutrófilos ocorreram na mucosa do jejuno dos animais do GLA, assim como degeneração da camada muscular. Distensão de vasos linfáticos foi observada na serosa dos animais do GLS. Essas lesões se manifestaram predominantemente no período da reperfusão.

#### **4.5.4 Avaliação Histológica do Pulmão**

Todos os animais apresentaram acúmulo de neutrófilos, de grau leve a moderado, nos pulmões, sendo mais intenso nos animais do GLA e, os referidos neutrófilos se acumularam nos septos alveolares.

Tabela 1. Valores médios do tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura retal (TR) e frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

PARÂMETRO	GRUPOS		Tempos							
			T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
FC (bat/min)	GLA	Média	32a	56a	49,8a	58b	73,8b	80b	84,5b	89b
	GLS	Média	32,8a	43a	42,5a	52a	55,3a	66,5b	73b	67b
FR (mov/min)	GLA	Média	9,8	19,5	22,5	18,5	23,5	21,5	31	30,3
	GLS	Média	14	35,5	30,5	24,5	22,5	34,5*	28,8	29,5
TPC (segundos)	GLA	Média	1,8a	2a	2,5a	3,5a	3,5a	3,3a	3,8a	4,3b
	GLS	Média	2	2,3	2,5	3,3	2,8	3,3	3,3	3,3
TR (°C)	GLA	Média	36,3a	36a	37,6a	38,1b*	38b	38,3b	38,1b	38,2b
	GLS	Média	35,7a	36a	36,8a	36,6a	37,3b	38,1b	38b	38,4b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 2. Valores médios obtidos para contagens globais de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos	Tempos							
		T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
Hemácias (x 10 <sup>6</sup> /μL)	GLA Média	5,53a	5,56a	6,41a	6,93a	7,76a	8,10b	8,64b	9,30b*
	GLS Média	5,62	5,37	5,63	5,47	5,90	6,36	6,92	6,75
Hemoglobina (g/dL)	GLA Média	9,3a	9,4a	10,6a	11,6a	12,5a	13,2a	13,8a	15b
	GLS Média	9,3a	8,9a	9,3a	9,3a	9,7a	10,1a	11,4b	11,2
Volume Globular (%)	GLA Média	27,4a	27,9a	31,7a*	34,4a*	38,7a*	40,5a	43,4a	46,7b*
	GLS Média	27,5a	26a	27,4a	26,7a	28,8a	31,1a	34b	33,4a

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 3. Valores médios obtidos para contagens global e diferencial de leucócitos no sangue de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos	Tempos								
		T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)	
<b>Leucócitos Totais /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	6400a	2225b	3925a	4000a	4150a	4800a	5700a	7025a	
	GLS Média	7400a	2575b	4550a	5200a	6000a	6975a	8750a	9375a	
<b>Neutrófilos Segmentados /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	4192	778,8	2778,9	2960	2925,8	3672	4320,6	5339	
	GLS Média	4388,2a	1364,8a	3198,7a	3941,6a	4680a	5566,1b	7087,5b	7809,4b	
<b>Neutrófilos Bastonetes /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	32	0	0	0	33,2	62,4	131,1	245,9	
	GLS Média	22,2	12,9	45,5*	52	150	313,9	350	403,1	
<b>Linfócitos /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	2041,6	1085,8	1197,1	1112	1240,9	1142,4	1402,4	1678,9	
	GLS Média	2590a	1014,6a	1383,2a	1362,4a	1356b	1408,9b	1723,8b	1668,8b	
<b>Monócitos /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	128	38,9	29,4	90	93,4	108	156,8	140,5	
	GLS Média	259	45,1	68,3	91	135	156,9	175	257,8	
<b>Eosinófilos /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	208a	116,8a	49,1a	30b	20,8b	0b	14,3b	52,7b	
	GLS Média	203,5	90,1	56,9	78	105	69,8*	87,5	23,4	
<b>Basófilos /<math>\mu</math>L</b>	GLA Média	32	33,4	39,3	30	10,4	36	0	0	
	GLS Média	74	12,9	11,4*	13	15	17,4	43,8	0	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 4. Valores médios obtidos para constituintes bioquímico-séricos e plasmáticos em equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos		Tempos							
			T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
Glicose (mg/dL)	GLA	Média	96	126,3	92,8	99,3	96,8	119,8	147,5	152,8
	GLS	Média	102,8	112,5	120,5	98	101,5	118,8	125,5	134,5
CK (U/L)	GLA	Média	315,7a	291,4a	437,1a	570,5a*	752,8b*	862,2b*	1007,9b	959,3b
	GLS	Média	275,3a	254,8a	327a	371a	412,9a	550,8b	503,8b	423,3a
PPT (g/dL)	GLA	Média	6,6	6,1	6	6,1	6,3	6,5	6,4	6,7
	GLS	Média	8,1a*	7,4a*	6,7b*	7b*	7,1b	7,3a	7,6a	7,7a
Fibrinogênio Plasmático (g/dL)	GLA	Média	0,10a	0,10a	0,10a	0,10a	0,13b	0,14b	0,14b	0,13b
	GLS	Média	0,23a*	0,23*	0,28a*	0,25a*	0,23a*	0,28b*	0,28b*	0,25a*

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 5. Valores médios obtidos para contagens total de células nucleadas e diferencial de leucócitos no líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos	Tempos							
		T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
Células Nucleadas Peritoneais / $\mu$ L	GLA Média	425a	450a	3725b	4750b	23425b	52050b	41600b	54500b
	GLS Média	500a	750a	3150b	27400b	25175b	44800b	60900b	71200b
Neutrófilos Segmentados / $\mu$ L	GLA Média	79,7	95,6	3343,2	4441	22429,4	49577,6	40040	5204,8
	GLS Média	85a	251,3a	2409,8b	24317,5b	23161b	42336b	56789,3b	66216b
Neutrófilos Bastonetes / $\mu$ L	GLA Média	0	0	0	0	0	0	0	0
	GLS Média	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinófilos / $\mu$ L	GLA Média	0	0	27,9	11,9	0	0	104	0
	GLS Média	2,5	1,9	31,5	137	188,8*	112	152,3	356
Basófilos / $\mu$ L	GLA Média	0	3,4	0	0	0	0	0	0
	GLS Média	0	0	0	0	0	0	0	0
Linfócitos / $\mu$ L	GLA Média	26,6	45	11,8	83,1	351,4	390,4	416	681,3
	GLS Média	21,3	86,3	78,8	616,5	440,6	672	1674,8*	1068
Monócitos / $\mu$ L	GLA Média	318,8a	308,3a	223,5b	201,9b	644,2b	2082b	1040b	1771,3b
	GLS Média	390a	410,6a	630b	2329b	1384,6b	1680b	2436b	3738b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 6. Valores médios obtidos para constituintes bioquímicos no líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos	Tempos							
		T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
Glicose (mg/dL)	GLA Média	97	102	93,3	95,5	78	78,3	87,5	105,5
	GLS Média	96	99,3	118,3	150,8	86,8	81,8	83,5	100
CK (U/L)	GLA Média	36,4a	1171,6b	6162b	6623,8b	5658,3b	5300,3b	5422,5b	5166,8b
	GLS Média	48,7a	280,9b	3655b	4004,5b	3128b	3422b	3211,8b	3484,3b
PT (g/dL)	GLA Média	0,2a	0,3a	2,2b	3,3b	3,9b	4,1b	4,3b	4,4b
	GLS Média	0,1a	0,2a	1,7b	2,6b	3b	3,4b	3,7b	3,8b
Fibrinogênio (g/dL)	GLA Média	0,033	0,010*	0,010	0,010	0,058	0,013	0,013	0,010
	GLS Média	0,003	0,003	0,013	0,015	0,015	0,010	0,015	0,010

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 7. Valores médios obtidos para contagem global de hemácias e dos valores de gravidade específica e pH do líquido peritoneal em equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos		Tempos							
			T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
Hemácias (x 10 <sup>3</sup> /μL)	GLA	Média	4500a	97,5a	300b	210b	187,5b	203,3b	197,5b	212,5b
	GLS	Média	62,5a	85a	290b	277,5b	245b	290b	287,5b	332,5b
Gravidade Específica	GLA	Média	1011a*	1012a	1022b	1027b	1029b*	1031b*	1032b*	1032b
	GLS	Média	1010a	1012a	1017b	1022b	1021b	1024b	1025b	1027b
pH	GLA	Média	7,0	7,0	7,1	7,1	7,1	7,0	7,0	7,1
	GLS	Média	7,8	8,0*	8,3*	8,5	8,3*	8,4	8,4	8,1*

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 8. Valores médios obtidos para óxido nítrico no sangue e líquido peritoneal em equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada à administração de LPS, após o uso do azul de metileno. Jaboticabal, 2008.

Parâmetro	Grupos		Tempos							
			T0 (0 HAI)	T1 (1,5)	T2 (4,5)	T3 (6)	T4 (7,5)	T5 (9)	T6 (10,5)	T7 (12 HAI)
<b>NO SÉRICO (mmol)</b>	GLA	Média	18,44	17,53	16,38	15,80	14,66	14,67	15,70	15,35
	GLS	Média	19,38	20,14	17,93	15,74	16	17,39	15,33	16,53
<b>NO LÍQUIDO PERITONEAL (mmol)</b>	GLA	Média	33,38	27,97	25,65	24,36	23,25	22,50	21,96	20,03
	GLS	Média	36,04	34,06	29,95	24,82	26,01	18,81	18,38	17,45

Tabela 9. Médias de escores para degeneração do jejuno de equino em amostras basais (T0), após 3 horas de obstrução experimental do jejuno (T1) e após 7,5 horas de reperusão, associada à administração do LPS, após o uso do azul de metileno em equinos. Jaboticabal, 2008.

Parâmetros	Grupos							
	GLA			GLS				
	T0 (1,5 HAI)	T1 (4,5 HAI)	T2 (12 HAI)	T0 (1,5 HAI)	T1 (4,5 HAI)	T2 (12 HAI)		
<b>MUCOSA</b>	<b>Edema</b>	Média	0	0	0	0	0	0
	<b>Hemorragia</b>	Média	0a	4b	4b	0a	4b	3a
	<b>Desprendimento</b>	Média	0a	4b	5b	0a	3b	4b
	<b>Neutrófilos</b>	Média	0a	3b*	4b	0a	2a	4b
	<b>Fibrina</b>	Média	0a	1a	3b	0	1	1
<b>SUBMUCOSA</b>	<b>Edema</b>	Média	0a	2b	4b	0a	4b	4b
	<b>Hemorragia</b>	Média	0a	0a	2b	0a	0a	1b
	<b>Neutrófilos</b>	Média	0a	2b	3b	0a	2b	3b
	<b>Vasos Linfáticos</b>	Média	0a	1a	1b	0a	1a	2b
<b>MUSCULAR</b>	<b>Edema</b>	Média	0	0	0	0	0	0
	<b>Hemorragia</b>	Média	0	0	0	0	0	0
	<b>Neutrófilos</b>	Média	0	0	0	0	0	2
	<b>Vasos Linfáticos</b>	Média	0	0	0	0	0	0
	<b>Degeneração</b>	Média	0a	1a	2b	0a	0a	1b
<b>SEROSA</b>	<b>Edema</b>	Média	0a	2b	2b	0a	2a	2b
	<b>Hemorragia</b>	Média	0	0	2	0a	0a	2b
	<b>Neutrófilos</b>	Média	0	1	2	0a	1b	3b
	<b>Vasos Linfáticos</b>	Média	0a	0a	1b	0a	0a	2b*
	<b>Fibrina</b>	Média	0	0	1	0a	0a	2b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \* Difere entre os grupos para um mesmo tempo ( $p \leq 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação Clínica

O acesso cirúrgico ao jejuno pelo flanco esquerdo com o equino em posição quadrupedal foi considerado adequado e eficiente para exposição e manipulação do segmento jejunal. A abordagem à cavidade abdominal com o animal em estação, além de dispensar a anestesia geral, tem a vantagem de não modificar a topografia dos órgãos abdominais. Contudo, é necessário considerar que, para os pacientes em crise abdominal aguda não é favorável a execução dessa técnica, podendo comprometer determinadas manobras cirúrgicas que dependam de maior manipulação visceral (OLIVEIRA, 2000). Bons resultados na utilização dessa abordagem já haviam sido relatados no tratamento cirúrgico da obstrução simples do jejuno SUSKO (1993).

A técnica de anestesia local em “L” invertido, conforme preconizado por TURNER & McILWRIGHT (1982), possibilitou que a analgesia do flanco esquerdo se instalasse rapidamente, e se mantivesse, para que os animais não manifestassem sinais de dor, ao terem a ferida cirúrgica e a região do flanco esquerdo manipulados varias vezes durante o período experimental.

O protocolo de sedação com associação de acepromazina, detomidina e tramadol mostrou-se eficiente para a manipulação do intestino delgado, principalmente para permitir a manipulação do jejuno durante os procedimentos cirúrgicos de obstrução e desobstrução experimental, e em promover analgesia durante os primeiros 90 minutos no pós-operatório. A associação de xilazina com opióide, já havia se mostrado eficiente como protocolo analgésico em um procedimento similar (PIPPI & LUMB, 1979). SUSKO (1993) utilizou a associação de acepromazina (0,02mg/Kg) e flunitrazepam (0,002mg/Kg) na mesma seringa em modelo de obstrução do jejuno por um período de 3 horas com manipulação cirúrgica pelo flanco. RIO TINTO (1999) em seu trabalho com isquemia venosa e arteriovenosa experimental do jejuno, relatou sucesso com animais sob anestesia geral, cujo protocolo consistiu no uso de midazolam (0,15 mg/Kg), guaifenesina

(100 mg/Kg) e anestesia inalatória com halotano. DABARAINER et al. (2001) estudaram os efeitos da distensão intraluminal no jejuno de equinos. Nesse estudo, os animais foram sedados com xilazina 10% (0,2 a 0,5 mg/Kg), a anestesia foi induzida com guaifenesina (100 mg/Kg) e ketamina (2,2 mg/Kg), sendo mantidos com halotano durante todo o trans-cirúrgico. Na proposta de diferentes associações farmacológicas, há de se considerar princípios imanentes aos modelos experimentais e os objetivos de cada estudo.

Decorridos 60 minutos da aplicação de LPS, todos os animais apresentaram-se deprimidos e inapetentes. Sabe-se que ao redor de uma hora, depressão, inquietação e inapetência constituem sinais que se manifestam gradualmente. De outra parte, outros sinais intermitentes de cólica são observados e podem levar o animal ao decúbito, geralmente sem rolamento (HENRY & MOORE, 1990; MaCKAY, 1992; COLLATOS, 1995).

Os animais de ambos os grupos com obstrução experimental do jejuno manifestaram sinais de dor, sendo que a intensidade relacionou-se diretamente com a progressão e severidade do distúrbio. Sinais de grau moderado foram observados nos animais do GLA após a obstrução experimental do jejuno, sendo mais intensas na fase de reperfusão e, mantiveram-se até o final do período experimental. No mesmo grupo foi necessária a passagem da sonda nasogástrica 3 horas após a desobstrução. Tais resultados corroboram as observações prévias de indicativos de dor visceral, e estão associados à distensão das alças que acompanha a deterioração aguda do estado clínico do paciente nos casos de obstrução intestinal com estrangulamento vascular (DART et al., 1992).

A congestão das membranas mucosas observada em todos os animais do GLA e 3 do GLS a partir da fase de reperfusão, provavelmente resultou da vasodilatação mediada pelas prostaciclina. Citocinas de ação sistêmica como a IL-1 e IL-6, podem ter sido induzidas já na fase inicial da endotoxemia seguida do período de isquemia, mas paradoxalmente, a reperfusão, embora necessária para reverter o estado isquêmico, pode piorar as lesões já presentes no estado de isquemia. A produção de quantidades excessivas de espécies reativas de

oxigênio, principalmente pelo sistema xantina oxidase, associada à intensa participação dos neutrófilos, amplifica a reação inflamatória agravando as condições clínicas e sistêmicas do animal (RIBEIRO & YOSHIDA, 2004).

Os sinais comportamentais de dor aguda e severa têm sido bem caracterizados em equinos, associados à elevação das freqüências cardíaca e respiratória (DOBROMYLSKYJ et al., 2000; SCHATZMANN, 2000). Durante todo o período experimental, os animais dos dois grupos apresentaram alterações da freqüência cardíaca, com especial referência aos animais do GLS, onde foram registradas de forma mais tardia, e cujos valores foram os menores ao longo do período experimental. As informações obtidas corroboram os achados de DATT e USENIK (1975), SUSKO (1993), MOORE et al. (1994) e FAGLIARI e SILVA (2002), cujos animais com abdômen agudo apresentaram freqüência cardíaca elevada, comumente associada à severidade do comprometimento abdominal, da sua interferência sobre o sistema cardiovascular, ao seqüestro de grandes volumes de fluidos e eletrólitos nos tecidos e luz intestinal, peritonite secundária, alterações de permeabilidade da parede do intestino e da endotoxemia. Neste estudo, acredita-se que as variações na freqüência cardíaca originaram-se da dor abdominal, principalmente nos animais do GLA, onde esses sinais foram mais proeminentes.

Não foram observadas durante o período experimental alterações significativas na freqüência respiratória. Há de se considerar que a sedação realizada antes dos procedimentos cirúrgicos interferiu nos parâmetros clínicos.

Segundo MOORE et al. (1994), o tempo de preenchimento capilar (TPC) é um ótimo indicador da perfusão sangüínea periférica, o qual reflete a passagem de nutrientes e oxigênio aos tecidos e o estado circulatório do animal. Nos quadros de abdômen agudo, conforme o processo evolui, e em virtude da sua gravidade, o TPC acima dos valores fisiológicos indica que a circulação periférica encontra-se comprometida, está ocorrendo severa hipoperfusão e desencadeando o choque. Esses relatos corroboram e justificam os achados neste estudo em relação ao TPC.

Quanto à temperatura retal, não excedeu os valores de referência citados por SPEIRS (1997), em nenhum dos grupos, porém, foi observado aumento desta variável na fase de reperfusão em todos os animais, fato que provavelmente possa ser atribuído à ação de mediadores inflamatórios já presentes nesta fase (RIBEIRO & YOSHIDA, 2005).

## **5.2 Achados Hematológicos e Bioquímicos**

Os valores médios basais obtidos para as variáveis do hemograma, em equinos dos dois grupos experimentais, revelaram-se ligeiramente abaixo daqueles referidos por autores de vários continentes, inclusive do Brasil. Contudo, valores médios semelhantes foram relatados em equinos hípidos, sem raça definida, também criados em condições nacionais (FARIA et al., 1996), portanto, considerou-se que tais fatores não seriam suficientes para considerar sua exclusão deste estudo.

Analisando os valores obtidos para o eritrograma (contagem global de hemácias, taxa de hemoglobina e volume globular ou hematócrito) notou-se aumento na contagem de hemácias nos animais do GLA, a partir das 9 HAI, assim como nos valores médios de volume globular e hemoglobina para os animais do GLA às 12 HAI, e no GLS a partir das 10,5 HAI, sugerindo hemoconcentração e contração esplênica, diferentemente dos achados relatados por MUIR & HUBELL (1991), SUSKO (1993) e COSTA (2007). O aumento do volume globular verificado na fase de reperfusão para os animais de ambos os grupos, juntamente com as alterações no fluxo sanguíneo poderiam explicar a congestão nas membranas mucosas e o aumento no TPC observados.

A contagem total e diferencial dos leucócitos, no sangue, evidenciou diminuição nos animais dos dois grupos experimentais 1,5 HAI, retornando gradativamente aos níveis basais até o final do período experimental. Os efeitos da endotoxemia na celularidade sanguínea geralmente incluem um quadro de

leucopenia, devido à rápida marginação de neutrófilos (HENRY & MOORE, 1990; DURANDO et al., 1994), coincidentemente com o aumento no número de hemácias circulantes devido contração esplênica com aumento nos valores do volume globular (WARD et al., 1987; MOORE, 1998; HENRY & MOORE, 1990).

A linfopenia e eosinopenia corroboram com as informações de JAIN (1993) e THRALL (2007), segundo os quais trata-se de leucograma comum em afecções inflamatórias. Ademais, é possível que as lesões decorrentes da reperfusão tenham contribuído para tal (HORNE et al., 1994; MOORE et al., 1994).

Nos animais do GLS, observou-se redução nos valores médios de proteína plasmática total 4,5 HAI, fato que pode ter sido devido às intervenções cirúrgicas, além de possíveis alterações hormonais causadas pelo estresse (LATIMER et al., 2003). A perda de sangue e fluidos corporais durante os atos cirúrgicos também devem ter contribuído, apesar da hemorragia ter sido efetivamente controlada em todos os animais. Decréscimos pós-cirúrgicos semelhantes foram relatados após enterotomia experimental quando se utilizou a mesma técnica de laparotomia pelo flanco (VALENTE, 2001). A causa principal relacionada à diminuição de proteínas plasmáticas, no abdômen agudo, refere-se às perdas causadas pelo aumento da permeabilidade intestinal devido à enteropatia (BROWN e BERTONE, 2002), e ao seqüestro peritoneal causado pela exsudação inflamatória.

A creatina quinase, é a enzima mais sensível para indicar lesão muscular esquelética (LATIMER et al., 2003). A CK teve sua atividade sérica aumentada o que concorda com as informações de LASSEN (2007).

A elevação do teor de fibrinogênio, proteína de fase aguda, segundo FAGLIARI & SILVA (2002), indica a existência de uma resposta inflamatória estimulada pelo ato cirúrgico ou decorrente da própria afecção intestinal.

A concentração plasmática de glicose depende de uma ampla variedade de fatores e resulta do equilíbrio entre a quantidade de açúcares que entra e aquela que é removida da circulação (RALSTON, 2002). Neste estudo, observou-se hiperglicemia nos animais dos dois grupos, contudo, não houve diferenças significativas com relação à taxa de glicose plasmática ao longo do período

experimental. Essas informações concordam com as descrições de COSTA (2007), e de acordo com MaCKAY (1992), a hiperglicemia ocorre principalmente nas fases iniciais do processo obstrutivo intestinal devido ao aumento da glicogénólise estimulada pelo aumento de catecolaminas circulantes.

### **5.3 Análise do Líquido Peritoneal**

Aumento na contagem de células nucleadas peritoneais foi registrada nos dois grupos a partir das 4,5 HAI. Este aumento foi ocasionado certamente pelas contagens de neutrófilos segmentados, cujo aumento também ocorreu, porém, de forma significativa somente no GLS, assim como descreveram BROWNLOW et al. (1981) e NEVES et al. (2000). PEIRÓ (2002) refere que a migração dessas células, estimuladas pela ativação dos macrófagos peritoneais, é o principal responsável pelo aumento da celularidade no líquido peritoneal.

A contagem de hemácias, segundo DeHEER et al. (2002) pode ter resultados conflitantes, salvo quando esta é muito elevada, o que sugere a pronta indicação cirúrgica. Neste estudo, houve aumento na contagem de hemácias nos animais dos dois grupos, o que concorda com os achados de SILVA (2005), o qual observou elevação na contagem de hemácias no líquido peritoneal dos animais com abdômen agudo.

O aumento da creatina quinase nos quadros de abdômen agudo ocorre paralelo ao de várias enzimas como a fosfatase intestinal e as fosfatase em geral. Ainda que no presente estudo não tenham sido mensuradas as isoenzimas, ressalta-se que aumentos foram observados nos dois grupos. SILVA (2005), assim como neste ensaio, observou um aumento da enzima CK no soro e no líquido peritoneal de cavalos com afecções cirúrgicas no intestino delgado, reiterando que a elevação no grupo acometido foi 11 vezes superior àquela verificada para o grupo controle.

Houve elevação nas concentrações de proteína total no líquido peritoneal

dos dois grupos, sendo evidente que a simples manipulação cirúrgica é suficiente para que esta variável tenha seus valores aumentados (DeHEER, 2002).

#### **5.4 Óxido Nítrico**

A ausência de diferenças significativas, entre animais dos dois grupos, com relação à concentração de óxido nítrico pode ser interpretada sob duas perspectivas. Ou não houve diferença entre os grupos em decorrência do uso do azul de metileno, ou o método utilizado não foi eficiente para detectá-las. Foram observadas tendências similares dos valores tanto no sangue como no líquido peritoneal de todos os animais. MIRZA et al. (2005) e COSTA et al. (2001) relataram que, são desconhecidos os motivos pelos quais não se tem encontrado diferenças significativas nos níveis de NO no plasma, líquido peritoneal e urina de cavalos acometidos por algum tipo de distúrbio do trato gastrointestinal espontâneo ou experimental.

Provavelmente, neste ensaio o efeito inibitório do azul de metileno sobre o NO foi marcante quanto ao comprometimento do tecido intestinal, sem conseguir atingir os líquidos extracelulares.

### 5.5 Avaliação Tecidual

As alterações no jejuno ocorreram principalmente nas camadas mucosa e submucosa, e devem ser conseqüentes à redução da perfusão tecidual durante o período de isquemia. Contudo, é importante ressaltar que parte dessas lesões principalmente o acúmulo de neutrófilos e o edema, foram provocados pela manipulação cirúrgica para exposição, instrumentação e colheita das amostras.

De acordo com MOORE (1990) a ocorrência de edema, infiltrado inflamatório, congestão e hemorragia observadas na mucosa, refletem a hipotensão, comum em equinos com abdômen agudo, os efeitos das endotoxinas e o seqüestro de líquidos no intestino. Segundo CHIU et al. (1970) e HAGLUND (1985) relataram que o desenvolvimento de lesão difusa na mucosa durante a hipotensão é comum em cães e humanos e acredita-se que resulte da diminuição na perfusão sangüínea e do mecanismo de contra-corrente das vilosidades intestinais.

A análise histológica do tecido intestinal conduzida nos animais experimentais, evidenciou diferenças entre os dois grupos, embora os referidos animais fossem submetidos ao mesmo estresse isquêmico. Entretanto, os animais que receberam o azul de metileno 15 minutos antes da fase de reperfusão evidenciaram lesões mais leves que aqueles que receberam o azul de metileno 15 minutos antes da obstrução experimental do jejuno, contrariamente aos achados relatados por ILHAM et al. (2003). Segundo ZABEL et al. (1995), há um gradiente entre a pO<sub>2</sub> da mucosa e a pO<sub>2</sub> da serosa do trato gastrointestinal, e que essa diferença se agrava em regimes de hipoperfusão. Com base nessa assertiva, pode-se afirmar que as vilosidades do intestino delgado tornam-se o principal alvo da lesão isquêmica.

Paralelamente à hipoperfusão há outras causas de lesão da mucosa que devem ser consideradas, inclusive a pobre extração e utilização de nutrientes (principalmente aminoácidos como a glutamina), pela mucosa do trato gastrointestinal, apesar das taxas normais de O<sub>2</sub> (LAM et al., 1994). A glutamina é

a principal fonte de energia para os enterócitos e, na sepse ou endotoxemia, a glutamina intestinal está reduzida, podendo levar a alterações metabólicas locais e conseqüentemente lesão da mucosa (KATAYAMA et al., 1997).

Por sua vez, os mecanismos da lesão de isquemia-reperfusão do parênquima pulmonar guardam, entretanto, pontos comuns com a lesão de perfusão em outros órgãos, incluindo uma participação significativa de radicais livres, influxo intracelular de cálcio, lesão da célula endotelial, seqüestro e ativação de leucócitos na circulação pulmonar, ativação do sistema complemento, liberação de mediadores inflamatórios incluindo metabólitos do ácido araquidônico, como discutido anteriormente (FISHER et al., 1991). Os animais do GLS apresentaram menor grau de lesão pulmonar, pois o azul de metileno desempenha um importante papel de receptor dos elétrons provenientes da reação enzimática. No grupo GLA, o oxigênio é que fez a captação dos referidos elétrons, levando a formação de espécies reativas de oxigênio que, provavelmente, atuaram no processo da lesão sistêmica. SALARIS et al. (1991) estudaram a utilização do azul de metileno como um inibidor da geração de espécies reativas de oxigênio pela ação da enzima xantina oxidase. Demonstraram que pares de elétrons de cada oxidação enzimática são transferidos para o centro ferro-sulfúrico do azul de metileno.

## 6 CONCLUSÕES

Avaliando-se os efeitos do azul de metileno sobre a resposta clínico-laboratorial e tecidual de equinos submetidos à obstrução experimental do jejuno associada ao lipopolissacarídeo, conclui-se que:

1. O modelo de obstrução experimental do jejuno associado à exposição ao lipopolissacarídeo (LPS) mostrou-se efetivo, pois foi capaz de promover alterações nos parâmetros clínicos, no sangue e no líquido peritoneal de equinos.

2. Não foi possível afirmar o efeito benéfico da administração do azul de metileno sobre a resposta clínico-laboratorial e nos tecidos dos equinos submetidos a esse modelo experimental.

3. Lesões distantes do sítio primário da lesão intestinal foram constatadas no pulmão, o que pode justificar a complexidade da resposta dos equinos ao tratamento mesmo quando a causa primária é cirurgicamente corrigida.

## 7 REFERÊNCIAS

ABREU, J.M.G.; ALVES, G.E.S.; VASCONCELOS, A.C.; RIBEIRO FILHO, J.D.; FALEIROS, R.R. Efeitos da isquemia e da reperfusão na ocorrência de apoptose no jejuno em equinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 59, n. 1, p. 35-40, 2007.

ADAMS, S.B.; FESSLER, J.F.; REBAR, A.H. Cytologic interpretation of peritoneal fluid in the evaluation of equine abdominal crises. **Cornell Vet.**, Ithaca, v. 70, p. 232-246, 1980.

ALLEN, D.; WHITE, N.A.; TYLER, D.E. Morphological effects of experimental distention of equine small intestine. **Vet. Surg.**, v. 17, p. 10-14, 1988.

ALVES, G.E.S.; MATTOS, J.J.R.T.; FALEIROS, R.R. et al. Efeito da hidrocortisona sobre a lesão de reperfusão e reparação da mucosa após isquemia venosa experimental no jejuno de equinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 55, p. 539-549, 2003.

ANDERSON, N. **Veterinary Gastroenterology**. 2 ed. Lea e Febiger: Malvern, Pennsylvania, USA. 1992. Cap.11.

ANTAL-SZALMAS, P., et al. Quantification of surface CD14 on human monocytes and neutrophils. **J. Leuk. Biol.**, New York, v. 61, p. 721-728, 1997.

ARDEN, W.A., STICK, J.A., PARKS, A.H., et al. Effects of ischemia and dimethyl sulfoxide on equine jejunal vascular resistance, oxygen consumption, intraluminal pressure, and potassium loss. **Am. J. Vet. Res.**, v. 50, n. 3, p. 330 -387, 1989.

ARUMUGAM, T.V., et al. Pirfenidone attenuates ischaemia reperfusion injury in the rat small intestine. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 29, p. 996-1000, 2002.

ASTIZ, M.E. et al. Pretreatment of normal humans with monophosphoryl lipid A induces tolerance to endotoxin: A prospective, double-blind, randomized, controlled trial. **Crit. Care Med.**, Baltimore, v. 23, n. 1, p. 9-17, 1995.

ASTIZ, M.E. et al. Induction of endotoxin tolerance with monophosphoryl lipid A in peritonitis: Importance of localized therapy. **J. Lab. Clin. Med.**, St. Louis, v. 123, n. 1, p. 89-93, 1994.

ASTIZ, M.E. et al. Comparison of the induction of endotoxin tolerance in endotoxemia and peritonitis by monophosphoryl lipid A and lipopolysaccharide. **Circ. Shock.**, New York, v. 39, p. 194-98, 1993.

BABIOR, B.M. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. **N. Eng. J. Med.**, Boston, v. 298, p. 659, 1978.

BACCARIN, R.Y.A.; THOMASSIAN, A.; NICOLETTI, J.L.M. et al. Alterações do fluido peritoneal em equinos com desconforto abdominal e suas relações com o tipo de lesão implantada e evolução após tratamento médico ou cirúrgico: análise de 70 casos. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 256-265, 1995.

BARTON, M.H. Endotoxemia. In: WHITE, N.A.; MOORE, J.N. **Current techniques in equine surgery and lameness**. 2 ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p. 298-303.

BARTON, M.H.; COLLATOS, C.; MOORE, J.N. Endotoxin induced expression of tumor necrosis factor, tissue factor and plasminogen activator inhibitor activity by peritoneal macrophages. **Equine Vet. J.**, Newmarket, v. 28, n. 3, p. 382-89, 1996.

BARTON, M.H.; COLLATOS, C.; MOORE, J.N. Cytokine production in the serum and peritoneal fluid of horses with acute gastrointestinal disease. **J. Vet. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 7, p. 146, 1993.

BAXTER, G.M. Alterations of endothelium-dependent digital vascular responses in horses given low-dose endotoxin. **Vet. Surg.**, Hagerstown, v. 24, p. 87-96, 1995.

BAYSTON, K.F.; COHEN, J. Bacterial endotoxin and current concepts in the diagnosis and treatment of endotoxaemia. **J. Med. Microbiol.**, Edinburgh, v. 31, p. 73-83, 1990.

BENITEZ-BRIBIESCA, L.; GÓMEZ-CAMARILLO, M.; CASTELLANOS-JUÁREZ, E.; MRAVKO, E; SÁNCHEZ-JUÁREZ P. Morphologic, biochemical and molecular mitochondrial changes during reperfusion phase following brief renal ischemia. **Ann. N Y. Acad. Sci.**, V. 926, p. 165-79, 2000.

BERNAL, J. Cuando ataca el cólico. **Revista Super Campo**, año V, n. 49. 1999.

BEUTLER et al. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. **Sci.**, London, v. 232, p. 997-980, 1986.

BIHL, F., et al. LPS-hyporesponsiveness of mice is associated with a mutation in Toll-like receptor 4. **Genes Immun.**, v. 2, p. 56-59, 2001.

- BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; GRECA, F.H.; LOSHI, S.; TAWIL, I.I.E.; MENINI, C.M.; RAMPAZZO, J.C. Influência do antibiótico nas lesões de isquemia e reperfusão intestinal, estudo experimental em ratos. **Acta Cir. Bras.**, n. 15, p. 83-87, 2000.
- BIRGEL, E.H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 2-49.
- BLISKLAGER, A.T., et al. How important is intestinal reperfusion injury in horses? **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 211, n. 11, p. 1387-1389, 1997.
- BOCHSLER, P.N.; SLAUSON, D.O.; NEILSEN, N.R. Secretory activity of equine polymorphonuclear leukocytes: stimulus specificity and priming effects of bacterial lipopolysaccharide. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 31, p. 241-253, 1992.
- BROWN, C.M., BERTONE, J. **The 5 minutes veterinary consult equine**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 1154p.
- BROWNLOW, M.A.; HUTCHINS, D.R.; JOHNSTON, K.G. Reference values for equine peritoneal fluid. **Equine Vet. J.**, Newmarket, v. 13, n. 2, p. 127-130, 1981.
- BROWNLOW, M.A.; HUTCHINS, D.R.; JOHNSTON, K.G. Mesothelial cells of peritoneal fluid. **Equine Vet. J.**, Newmarket, v. 14, n. 1, p. 86-88, 1982.
- BRYANT, C.E., ELLIOTT, J. Nitric oxide: friend or foe? **Equine Vet. Ed.**, v. 6, n. 2, p. 59-64, 1994.
- BULGER, E.M.; MAIER, R.V. Lipid mediators in the pathophysiology of critical illness. **Crit. Care Med.**, v. 28, p. N27-N36, 2000.
- BURROWS, G.E. Endotoxemia in the horse. **Equine Vet. J.**, Newmarket, v. 13, n. 2, p. 89-94, 1981.
- BURROWS, G.E. Hemodynamic alterations in the anesthetized pony produced by slow intravenous administration of *Escherichia coli* endotoxin. **Am. J. Vet. Res.**, v. 31, p. 1975-1982, 1970.
- BUZATO, M.A.S. **Azul de metileno no tratamento do choque anafilático: Estudo experimental in vivo das alterações hemodinâmicas e in vitro da reatividade do endotélio vascular da aorta abdominal em coelhos**. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

CAMPEBELL, R.C.; PEIRÓ, J.R.; ROSA, P.C.S.; VALADÃO, C.A.A.; BECHARA, G.H. Endotoxemia por lipopolissacárido de *Escherichia coli*, em equinos: efeitos de anti-inflamatórios nas concentrações sérica e peritoneal do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 59, n. 4, p. 837-843, 2007.

CAMPEBELL, R.C. **Endotoxemia por lipopolissacárido (LPS) de *Escherichia coli*, em equinos: efeitos anti-inflamatórios nas concentrações sérica e peritoneal do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )**. 2003. 71 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

CARDEN, D.L.; GRANGER, D.N. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. **J. Pathol.**, v. 190, n. 3, p. 255-266, 2000.

CARGILE, J.L. et al. Effect of treatment with a monoclonal antibody against equine tumor necrosis factor (TNF) on clinical, hematologic and circulating TNF responses of Miniature Horses given endotoxin. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 56, n. 11, p. 1451-1459, 1995.

CARVALHO, P.R.A.; TROTTA, E.A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. **Jornal de Pediatria**, v. 79, supl. 2 p. S195-S204, 2003.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**, 3ª ed. São Paulo: Ed. Manole, 1984, 565 p.

COLLATOS, C. Clinical conditions associated with endotoxemia. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 41, 1995, Lexington. **Proceedings...**, Lexington, 1995. p. 103-106.

COLLATOS, C. et al. Intravascular and peritoneal coagulation and fibrinolysis in horses with acute gastrointestinal tract diseases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, Schaumburg, v. 207, n. 4, p. 465-70, 1995.

COLLATOS, C. et al. Regulation of equine fibrinolysis in blood and peritoneal fluid based on a study of colic cases and induced endotoxemia. **Equine Vet. J.**, Newmarket, v. 26, n. 6, p. 474-81, 1994.

COLLARES, E.F.; VINAGRE, A.M. Efeito do lipopolissacárido bacteriano sobre o esvaziamento gástrico de ratos: avaliação do pré-tratamento com dexametasona e azul de metileno. **Arq. Gastroenterol.**, v. 40, n. 2, abr/jun, 2003.

COSTA, N.S. **Obstrução experimental do jejuno em equinos: efeitos da hidrocortisona nos parâmetros clínicos e laboratoriais**. Jaboticabal: UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007. 165p. Tese (Doutorado).

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Robbins pathologic basis of disease**. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 1994. Cellular injury and cellular death: p. 1-34.

DABARAINER, R.M.; WHITE II, N.A.; DONALDSON, L.L. Effects of intraluminal distention and decompression on microvascular permeability and hemodynamics of the equine jejunum. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 2, p. 225-236, 2001.

DABAREINER, R.M, WHITE, N.A., DONALDSON, L.L., et al. Evaluation of Carolina rinse as a treatment for ischemia reperfusion of the equine jejunum. **Vet. Surg.**, v. 27, n. 5, p. 521, 1998.

DABAREINER, R.M, WHITE, N.A., LEMASTERS, J.J., et al. Effect of a reperfusion solution Carolina rinse on intestinal vascular permeability and blood flow after jejunal ischemia and reperfusion in the horse. **Vet. Surg.**, v. 23, n. 5, p. 399, 1994.

DART, A. J.; SNYDER, J.R.; SPIER, S.J. et al. Ionized calcium concentration in horses with surgically managed gastrointestinal disease: 147 cases (1988-1990). **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 201, n. 8, p. 1244-1248, 1992.

DATT, S.C.; USENIK, E.A. Intestinal obstruction in the horse. Physical signs and blood chemistry. **Cornell Veterinary.**, Ithaca, v. 65, n. 2, p.152-172, 1975.

DeHEER, H.L.; PARRY, B.W.; GRINDEM, C.B. Peritoneal Fluid. In: COWEL, R.R.L.; TYLER, R.D. (Ed.) **Diagnostic cytologic and hematology of the horse**. St. Louis: Mosby, 2002. p. 127-162.

DIAS, L.A. et al. Avaliação da isquemia focal induzida pela oclusão da artéria cerebral media e a ação neuroprotetora do cetoprofeno em ratos. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 58, n. 4, p. 1047-1054, 2000.

DOBROMYLSKYJ, P.; FLECKNELL, P. A.; LASCELLES, B. D. et al. 2000: Pain assessment. In: Flecknell, P.A. (eds), **Pain Management in Animals**, pp. 53–79. W.B. Saunders, London, UK.

DONALDSON, D.M., et al. Interrelationship between serum beta-lysin, lisozime, and the antibody-complements system in the killing Escherichia coli. **Infect. Immun.**, Washington, v. 10, n. 3, p. 657-666, 1974.

DUCHARME, N.G., HACKETT, R.P., DUCHARME, G.R., et al. Surgical treatment of colic: results in 181 horses. **Vet. Surg.**, v. 12, n. 4, p. 206-209, 1983.

DURANDO, M.M. Effects of polymyxin B and Salmonella typhimurium antiserum on horses given endotoxin intravenously. **Am. J. Vet. Res.**, v. 55, p. 921-927, 1994.

EDWARDS, J.B.; PROUDMAN, C.J. Diseases of the small intestine resulting in colic, In: MAIR, T.; DIVERS, T.; DUCHARME, N. **Manual of equine gastroenterology**. UK: W.B. Saunders, 2002. cap. 13, p. 249–266.

EDWARDS, S.E.R., EDWARDS, G.B., PROUDMAN, C.J., et al. The preliminary analysis of 546 cases of equine colic referred to the university of Liverpool during a two year period (1994-96). In: EQUINE COLIC RES SYMP, 6, 1998, Athens. **Proceedings...** Athens : Georgia Center for Continuing Education The University of Georgia, 1998. 65 p.

EDWARDS, G.B. Identification of tumor necrosis factor in the peritoneal fluido f horses with colic, In: EQUINE COLIC SYMPOSIUM, Georgia, 1991. **Proceedings...** Athens: Georgia Center for Continuing Education, 1991. p. 38.

EYRE, P.; ELMES, P.J.; STRICKLAND, S. Corticosteroid-potentiated vascular responses of the equine digit: a possible pharmacologic basis for laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 40, n. 1, p. 135-138, 1979.

EVORA, P.R.B., et al. Métodos experimentais no estudo da função endoelial. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 66, n. 5, 1996.

EVORA, P.R.B.; PEARSON, P.J.; RODRIGUES, A.J.; VIARO, F.; SCHAFF, H.V. Relaxamento dependente do endotélio causado pela poli-L-arginina. Implicações sobre a hiperpolarização como mecanismo de vasodilatação. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 80, n. 6, p. 621-625, 2003.

FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos híidos e de equinos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-567, 2002.

FALEIROS, R.R. **Obstrução experimental do cólon menor equino: aspectos clínicos, patológicos e terapêuticos**. Tese em Cirurgia Veterinária. 168 f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – FCAV – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

FARIA, E.P., et al. Avaliação hematimétrica de equinos sem raça definida na região metropolitana de Belo Horizonte-MG (resultados parciais). In: XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária , Anais... Goiânia: CBMV, 1996, P. 11.

- FEESLER, J.F.; BOTTOMS, G.D. Plasma endotoxin concentrations in the experimental and clinical equine and canine subjects. **Vet. Surg.**, Hagerstown, v. 17, p. 32, 1988.
- FINK, M.P.; HEARD, S.O. Current research review: laboratory models of sepsis and septic shock. **J. Surg. Res.**, v. 49, p. 186-196, 1990.
- FISCHER A.T.Jr. Advances in diagnostic techniques for horses with colic. **Veterinary Clinics of North American Equine Practice.**, Philadelphia, v. 13, n. 2, p. 203-20, 1997.
- FLAHERTY, J.T.; WEISFELDT, M.L. Reperfusion injury. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 5, n. 9, p. 409-419, 1988.
- FLETCHER, J.R. Eicosanoids: critical agents in the physiological process and cellular injury. **Arch. Surg.**, v. 128, p. 1192-1196, 1993.
- FORSYTH, S.F.; GUILFORD, W.G. Ischaemia reperfusion injury - a small animal perspective. **British Veterinary Journal**, London, v. 151, n. 3, p. 281-298, 1995.
- FRANDSON, R.D.; SPURGEON, T.L. **Anatomia y fisiologia de los animales domésticos.** 5ª ed. Interamericana. 1992. cap. 18.
- FRASER, C.M. (Ed). **Manual Merck de Veterinária:** Um Manual de Diagnóstico, Tratamento, Prevenção e Controle de Doenças para o Veterinário. São Paulo: Roca, 1997. 2169 p.
- FREDEN, G.O., et al. Reliability of using results of abdominal fluid analysis to determine treatment and predict lesion type and outcome for horses with colic: 218 cases (1991-1994). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 213, n. 7, p. 1012-1015, 1998.
- FREEMAN, D.E.; CIMPRICH, R.E.; RICHARDSON, D.W. et al. Early mucosal healing and chronic changes in pony jejunum after various types of strangulation obstruction. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 46, n. 6, p. 810-818, 1988.
- FURCHGOTT, R.F.; ZAWADSKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 228, p. 373-6. 1980.
- GALILI, Y.; BEM-ABRAHAM, R.; WEINBROUM, A.; MARMUR, S.; LAINA, A. Methylene blue prevents pulmonary injury after ischemia - reperfusion. **J. Trauma.** v. 45, n. 2, p. 222-225, 1998.

GALILI, Y.; KLUGER, Y.; MIANSKI, Z.; IAIANA, A.; WOLLMAN, Y.; et al. Methylene blue: a promising treatment modality in sepsis induced by bowel perforation. **Eur. Surg. Res.**, n. 29, p. 390-395, 1997.

GARMA-AVIÑA, A. Cytology of 100 samples of abdominal fluid from 100 horses with a abdominal disease. **Equine Vet. J.**, v. 30, n. 5, p. 435-444, 1998.

GAYLE, J.M.; MACHARG, M.A.; SISSON, S. Sistema digestivo do equino. In: GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. p. 424-465.

GONZALEZ-CRUSSI, F.; HSUEH, W. Experimental model of ischemic bowel necrosis. **American journal of pathology**, Bethesda, v. 112, n. 1, p. 127-135, 1983.

GORIS, R.J.A. MODS/SIRS: Result of an overwhelming inflammatory response? [World Journal of Surgery](#), New York, v. 20, n. 4, p. 418-421, 1996.

GRANGER, D.N., KORTHUIS, R.J. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 57, p. 311-332, 1995.

GRECA, F.H.; GONÇALVES, N.M.F.; SOUZA FILHO, Z.A.; SILVA, A.P.G.; MIMA, W.H.; MIMA, H.H. A influência do azul de metileno na prevenção da lesão pulmonar após isquemia-reperfusão intestinal. **Acta Cir. Bras. [serial online]**, v. 19, n. 4, jul/ago, 2004.

HACK, C.E. et al. Role of citokines in sepsis. **Adv. Immunol.**, v. 66, p. 101-195, 1997.

HALLIWELL, B. Antioxidants: the basics - what they are and how to evaluate them. **Adv. Physiol.**, v. 38, p. 3-20, 1994.

HAMILTON, D.P.; HARDENBROOK, H.J. Abdominal paracentesis in the horse. **Veterinary Medicine and Small Animal Clinician**, v. 5, p. 519-522, 1973.

HARDIE, E.M., KRUSE-ELLIOT, K. Endotoxic shock. Part I: a review of cases. **J. Vet. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 4, n. 5, p. 258-266, 1990.

HENRY, M.M.; MOORE, J.N. Equine endotoxemia. In: SMITH, B. P. **Large animal internal medicine**. Saint Louis: Mosby, 1990. p. 668-674.

HERNANDEZ, L.A. GRISHAM, M.B., TWOHIG, B., et al. Role of neutrophil in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. **Am. J. Physiol.**, v. 253, p. H699-H703, 1987.

HORNE, M.M.; PASCOE, P.J.; DUCHARME, N.G. et al. Attempts to modify reperfusion injury of equine jejunal mucosa using dimethylsulfoxide, allopurinol, and intraluminal oxygen. **Veterinary Surgery**, Hagerstown, v. 23, n. 4, p. 241-249, 1994.

ILHAN, H.; ALATAS, O.; TOKAR, B.; PASAOGLU, O.; KOKU, N. Effects of the Anti-icam-1 antibody, allopurinol and methylene blue on intestinal reperfusion injury. **J. Ped. Surg.**, v. 7, n. 6, p. 1591-1595, 2003.

INOUE, O.J., FREEMAN, D.E., WALLIG, M. Effects of hypochlorous acid and ascorbic acid on conductance, permeability, and structure of the colonic mucosa *in vitro*. **Am. J. Vet. Res.**, v. 59, n. 1, p. 82-87, 1998.

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. 1 ed, Philadelphia: Lea & Febiger, p. 222-295, 1993.

JUZWIAK, C.A., et al. The effect of repeated abdominocentesis on peritoneal fluid constituents in the horse. **Vet. Res. Comm.**, v. 15, p. 177-180, 1991.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. (Eds). Clinical biochemistry of domestic animals. 5 ed. San diego: **Academic Press**, 1997. 932 p.

KATAYAMA, M. et al. Role of bacterial adherence and the muçus barrier on bacterial translocation: Effects of protein malnutrition and endotoxin in rats. **Ann Surg.**, v. 225 n. 3 p. 317-326, 1997.

KEANEY, J.F.Jr.; PUYANA, J.C.; FRANCIS, S.; LOSCLAZO, J.F.; STAMLER, J.S.; LOSCALZO, J. **Circ Res.** v. 74, n. 6, p. 1121-1125, 1994.

KELNER, M.J., et al. Proceedings, Fourth International congress on oxygen radical wed. 1978, p. 100-101.

KING, J.N.; GERRING, E.L. Detection of endotoxin in cases of equine colic. **Vet. Rec.**, London, v. 123, p. 269-71, 1988.

KNOBEL, E. Óxido nítrico e sepse. **Arq. Brás. Cardiol.**, v. 67, n. 4, 1996.

KOTERBA, A.M.; BREWER, B.D.; TARPLEE, F.A. Clinical and clinicopathological characteristics of the septicemic neonatal foal. Review of 38 cases. **Equine Vet. J.**, Suffolk, v. 16, p. 376-383, 1984.

KRUEGUER, A.S., et al. Ultrastructural study of the equine cecum during onset laminitis. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, p. 1804-1812, 1986.

- KRUSE-ELLIOT, K. Endotoxic shock. Part I: a review of cases. **J. Vet. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 4, n. 5, p. 258-266, 1990.
- KUBES, P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. G143-G149, 1993.
- KUBES, P.; HUNTER, J.; GRANGER, D.N. Ischemiareperfusion-induced feline intestinal dysfunction: importance of granulocyte recruitment. **Gastroenterology**, v. 103, n. 3, p. 807-812, 1992.
- KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D.N. Modulation of PAF-induced leukocyte adherence and increased microvascular permeability. **Am. J. Physiol.**, v. 259, p. G859-G864, 1990.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; MITCHELL, R.N. Inflamação aguda e crônica. In: **Robbins patologia básica**. 8ª ed. 2008. cap. 2, p. 33-62.
- LACERDA NETO, J.C.; PINTO, L.C.; SCOGNAMILLO, M.V. et al. Estudo retrospectivo dos casos de cólica atendidos no Hospital Veterinário da FCAV - UNESP. **Ars Vet.**, v. 10, p. 194, 1994. (Resumo).
- LAM, C. et al. Microvascular perfusion is impaired in a rat model of normotensive sepsis. **J Clin Invest.**, v. 4, n. 5, p. 2077-2083, 1994.
- LASSEN, E.D.; SWARDSON, C.J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, v. 11, n. 3, p. 351-389, 1995.
- LATIMER, K.S.; MAHAFFEY, E.A.; PRASSE, K.W. **Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology**. 4<sup>th</sup>ed. Iowa: Blackwell, 2003, 425p.
- LI, X.S.; URIUDA, Y.; WANG, Q.D., et al. Role of L-arginine in preventing myocardial and endothelial injury following ischaemia/reperfusion in the rat isolated heart. **Acta Physiol. Scand.**, v. 156, n. 1, p. 37-44, 1996.
- LOCHNER, F.K. The use of the allopurinol in an endotoxin shock model in the horse. In: Equine Colic Research Symposium, Athens, 1986. **Proceedings**. Athens: 1986, p. 39.
- LUDGREN, O.; HAGLUND, U. The pathophysiology of the intestinal countercurrent exchanger. **Life Sci.**, v. 23, n. 14, p. 1411-1422, 1978.
- LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Force Institute of Pathology**. 3 ed. New York: McGraw Hill, 1968.
- LUNA, S.P.L. Interpretação de exames laboratoriais. Diagnóstico em cólica

eqüina. In: FORUM DE GASTROENTEROLOGIA EQUINA, I, 1994, Curitiba: **Anais...** CBCAV, p.38-48.

MackKAY, R.J. Endotoxemia. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine 3**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. p. 225-32.

MackKAY, R.J. et al. Tumor necrosis factor activity in the circulation of horses given endotoxin. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 52, n. 4, p. 533-38, 1991.

MACORIS, D.G Importância da avaliação do líquido peritoneal no diagnóstico e prognóstico da cólica. In: Ciclo internacional de cólica eqüina, 2, 1995, Jaboticabal, p. 21-23.

MALARK, J.A.; PEYTON, L.C.; GALVIN, M.J., Effects of blood contamination on equine peritoneal fluid analysis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schamburg, v. 201, n. 10, p. 1545-1548, 1992.

MANGINO, M.J., ANDERSON, C.B., MURPHY, M.K., et al. Mucosal arachidonate metabolism and intestinal ischemia reperfusion injury. **Am. J. Physiol.**, v. 257, p. G299-G307, 1989.

MARQUES, L.C. Equilíbrio hídrico-eletrolítico. Cólica Equina II: Diagnóstico e tratamento. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CÓLICA EQUINA, II, 1990, Jaboticabal: **Boletim técnico**, p. 47-70.

MATHISON, J.C.; WOLFSON, E.; ULEVITCH, R.J. Participation of tumor necrosis factor in the mediation of Gram negative bacterial lipolissaccharide-induced injury in rabbits. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 81, p. 1925-1937, 1988.

McCARTHY, R.N., HUTCHINS, D.R. Survival rates and portoperative complications after equine colic surgery. **Aust. Vet. J.**, Brunswick, v. 65, n. 2, p. 40-43, 1988.

McCORD, J.M. Oxigen derived free-radicals in postischemic tissue injury. **N. Engl. J. Méd.**, v. 312, n. 3, p. 159-163, 1985.

Mc CORD, J.M.; FRIDOVICH, I. The utility of superoxido dismutase in studying free radical reactions. In: The mechanism of the mediation of cytochromo c reduction by a variety of electrons carriers. **J. Biol. Chem.** v. 245, n. 6, p. 1374-1377, 1970.

McILWRAITH, C.W. Complications of laparotomy incisions in the horse. **Proc. Am. Equine Pract.**, v. 24, p. 209- 218, 1978.

- MEIRELLES Jr, R.F. **Efeitos do azul de metileno na pancreatite aguda induzida por taurocolato de sódio e enteroquinase em porcos.** 2004. 127 p. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.
- MENARDI, A.C.; VIARO, F.; VICENTE, V.V.A.; RODRIGUES, A.J.; EVORA, P.R.B. Estudos hemodinâmicos e da função endotelial em porcas saudáveis após injeção em bolus endovenoso de azul de metileno. **Arq. Brás. Cardiol.**, v. 87, p. 525-532, 2006.
- MENDES, L.C.N. et al. Experimental peritonitis in horses: peritoneal fluid composition. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 51, n. 3, p. 217-221, 1999.
- MESCHTER, C.L.; CRAIG, D.; HACKET, R. Histopathological and ultrastructural changes in simulated large colonic torsion and reperfusion in ponies. **Equine Vet. J.**, v. 23, n. 6, p. 426-433, 1991.
- METZE, K. Distúrbios da circulação. In: BRASILEIRO FILHO, G. (Ed). Bogliolo – **Patologia geral.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 80-110.
- MEYERS, K.; REED, S.; KECK, M. et al. Circulating endotoxin-like substance(s) and altered hemostasis in horses with gastrointestinal disorders: an interim report. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 43, n. 12, p. 2233-2243, 1982.
- MILLAR, H.R.; SIMPSON, J.G.; SRALKEN, A.L. An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 24, n. 9, p. 827-830, 1971.
- MIRANDA, V.R.M.; CORTEGUERRA, L.R.L. Óxido nítrico/sepsis. Controversias en su metabolismo, funciones y utilización. **Rev. Cubana Pediatr.**, v. 71, n. 4, p. 238-244, 1999.
- MIRZA, MH., et al. Detection and comparison of nitric oxid of clinically healthy horses and those on naturally acquired strangulating large colon volvulus. **Can. J. Vet. Res. Apr**; v. 69, n. 2, p. 106-115, 2005.
- MOORE, J.N. II: Perspective on endotoxemia. In: AAEP (Proceedings of the Annual Convention of the AAEP), San Diego, 2001. **Proceedings...**, Lexington, American Assosiation of Equine Practitioners, 2001, p. 61-74.
- MOORE, J.N. Endotoxemia and septicemia as causes of shock. In: COLAHAN, P.T., et al. **Equine medicine and surgery.** 5 ed., St. Louis: Mosby, 1999. p. 218-224.

MOORE, R.M.; BARTON, M.H. Endotoxemia. In: WATSON, T. **Metabolic and endocrine problems of the horse**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p. 151-165.

MOORE, R.M.; BERTONE, A.L.; MUIR, W.W. Effect of highmolecular weight dextran macromolecules on low-flow ischemia and reperfusion of the large colon in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v. 57, n. 7, p. 1067-1073, 1996.

MOORE, R.M.; MUIR, W.W.; GRANGER, D.N. Mechanisms of gastrointestinal ischemia-reperfusion injury and therapeutic interventions: a review and its implications in the horse. **J. Vet. Int. Med.**, v. 9, n. 3, p. 115-132, 1995.

MOORE, R.M.; BERTONE, A.L.; BAILEY, M.Q., et al. Neutrophil accumulation in the large colon of horses during low-flow ischemia and reperfusion. **Am. J. Vet. Res.**, v. 55, n. 10, p. 1454-1463, 1994a.

MOORE, R.M., BERTONE, A.L, MUIR, W.W., et al. Histopatological evidence of reperfusion injury in the large colon of the horse after low-flow ischemia. **Am. J. Vet. Res.**, v.55, n.10, p.1434-1443, 1994b.

MOORE, J.N.; MORRIS, D.D. Endotoxemia and septicemia in horses: experimental and clinical correlates. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 200, n. 12, p. 1903-1914, 1992.

MOORE, J.N. Pathophysiology of circulatory shock. In: WHITE, N.A. (Ed). **The equine acute abdomen**. Philadelphia : Lea & Febiger, 1990. p. 89-100.

MOORE, J.N. Recognition and treatment of endotoxemia. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract.**, v. 4, p. 105-113, 1988.

MOORE, R.M.; WHITE, N.A.; TRIM, C.M., et al. Effect of intraluminal oxygen in intestinal strangulation obstruction in ponies. **Am. J. Vet. Res.**, v. 41, n. 10, p. 1615-1620, 1980.

MORRESEY, P.R. Synthesis of proinflammatory mediators in endotoxemia. **Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.**, v. 23, n. 9, p. 829-836, 2001.

MORRIS, D.D.; MOORE, J.N.; CROWE, N.C. Serum tumor necrosis factor activity in horses with colic due to gastrointestinal disease. In: EQUINE COLIC SYMPOSIUM, 4, 1991, Athens. **Proceedings...**, Athens, 1991. p. 38.

MORRIS, D.D. Bacterial infections of the newborn foal. Part I: Clinical presentation, laboratory findings, and pathogenesis. **Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.**, v. 6, p. A332-A341, 1984.

MORRISON, D.C. et al. Current status of bacterial endotoxins. **A. S. M. News**, Cleveland, v. 60, p. 479-84, 1994.

MORRISON, D.C.; ULEVITCH, R.J. The effects of bacterial endotoxins on host mediation system. A review. **Am. J. Pathol.**, Baltimore, v. 93, n. 2, p. 527-617, 1978.

MUELLER, A.R.; PLATZ, K.P.; LANGREHR, J.M., et al. The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. **Transplantation**, v. 58, n. 12, p. 1309-1316, 1994.

NAKAGAWA, M.; [BONDY, G.P.](#); [WAISMAN, D.](#) et al. The effect of glucocorticoids on the expression of L-selectin on polymorphonuclear leukocyte. **Blood**, Washington, v. 93, n. 8, p. 2730-2737, 1999.

NEVES, M.M.; MARQUES JR, A.P.; ALVES, G.E.S. et al. Valores referenciais da análise do líquido peritoneal de equinos sadios. **Ciência Rural.**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 809-811, 2000.

NIKAIDO, H.; NAKAE, I. The outer membrane of Gram-negative bacteria. **Adv. Microb. Phys.**, New York, v. 20, p. 163-250, 1979.

NOVELLI, G.P.; ADEMBRI, C.; GANDINI, E. et al. Vitamin E protects human skeletal muscle from damage during surgical ischemia-reperfusion. **American Journal Surgery**, New York, v. 173, n. 3, p. 206-209, 1997.

OCHALSKI, S.J. et al. Inhibition of endotoxin-induced hypothermia and serum TNF- $\alpha$  levels in CD-1 mice by various pharmacological agents. **Agents Actions**, Basel, v. 39, p. C52-54, 1993.

OLIVEIRA, H. Resumo da palestra proferida no: V Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária. Goiânia, 2000.

OLSON, N.C.; HELLYER, P.W.; DODAM, J.R. Mediators and vascular effects in response to endotoxin. **Br. Vet. J.**, London, v. 151, p. 489-522, 1995.

OPAL, S.M.; YU Jr. R.L. Antiendotoxin strategies for the prevention and treatment of septic shock. New approaches and future directions. **Drugs.**, v. 55, n. 4, p. 497-508, 1998.

OTAMIRI, T.; TAGESSON, C. Role of phospholipase A<sub>2</sub> and oxygenated free radicals in mucosal damage after small intestinal ischemia and reperfusion. **American Journal Surgery**, New York, v.157, n.5, p. 562-566, 1989.

OTAMIRI, T.; FRANZÉN, L.; LINDMARK, D. et al. Increased phospholipase A<sub>2</sub> and decreased lysophospholipase activity in the small intestinal mucosa after ischaemia and revascularisation. **Gut**, London, v. 28, n. 11, p. 1445-1453, 1987.

PARKS, D.A.; GRANGER, D.M. Ischemia-induced vascular changes: role of xantine oxidase and hydroxyl radicals. **Am. J. Physiol.**, v. 245, p. G285-G289, 1983.

PARKS, D.A.; GRANGER, D.M. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. **Am. J. Physiol.**, v. 250, p. G749-G753, 1986.

PARRY, B.W., et al. Assessment of the necessity for surgical intervention in cases of equine colic: a retrospective study. **Equine Vet. J.**, v. 15, n. 3, p. 216-221, 1983.

PEIRÓ, J.R. Clinical and laboratory evaluation after intraperitoneal injection of lipopolysaccharidae (LPS). **J. Equine Vet. Sci.**, v. 20, n. 3, p. 187-191, 1999. Errata publicada no **J. Equine Vet. Sci.**, v. 20, p. 44, 2000.

PEREIRA JÚNIOR, G.A.; MARSON, F.; ABEID, M.; OSTINI, F.M.; SOUZA, S.H.; BASILE-FILHO, A. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 349-362, jul/set. 1998.

PIPPI, N.L.; LUMB, W.V. Objective tests of analgesic drugs in ponies. **American Journal of Veterinary Research.**, Schaumburg, v. 80, n. 8, p. 1082-1086, 1979.

PREISER, J.C.; LEJEUNE, P.; ROMAN, A.; CARLIER, E.; De BACKER, D.; LEEMAN, M. et al. Methylene blue administration in septic shock: a clinical trial. **Crit. Care Med.**, v. 23, p. 259-264, 1995.

RAKESTRAW, P.C.; SNYDER, J.R.; WOLINER, B.S., et al. Involvement of nitric oxide in inhibitory neuromuscular transmission in the equine jejunum. **Am. J. Vet. Res.**, v. 57, n. 8, p. 1206-1213, 1996.

RALSTON, S.L. Insulin and glucose regulation. **Veterinary Clinical North American Equine Animal Practice.**, Philadelphia, v. 18, n. 2, p. 295-304, 2002.

RANGAN, U.; BULKLEY, G.B. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. **Br. Med. Bull.**, n. 49, p. 700-718, 1993.

RIBEIRO, M.E.; YOSHIDA, W.B. Lesões intestinais decorrentes da isquemia e reperfusão: fisiopatologia e modelos experimentais. **J. Vasc. Br.**, v. 4, n. 2, p. 183-194, 2005.

RIBEIRO, N.A.M.; STOLF, N.A.G.; SILVA JUNIOR, A.F.; VIANA, V.J.C.; CARVALHO, E.N.; ATHANÁZIO, R.; REIS, M.G.; OLIVEIRA, S.A. Efeito do azul de metileno na resposta inflamatória em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, v. 19, n. 1, p. 17-23, 2004.

RIO TINTO, J.J.M. **Lesões de isquemia e reperfusão experimentais no jejuno de equinos: tratamento com succinato sódico de hidrocortisona.** 82p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

RIO TINTO, J.J.M.; ALVES, G. E. S.; FALEIROS, R.R. et al. Lesões de isquemia e reperfusão no intestino de equinos: fisiopatologia e terapêutica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, p. 1083-1093, 2000.

RICKETTS, S.W. Technique of paracentesis abdominis (peritoneal tap) in the horse. **Equine Vet. J.**, Newmarket, v. 15, n. 3, p. 288-289, 1983.

ROCHAT, M.C. An introduction to reperfusion injury. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v. 13, n. 6, p. 923-930, 1991.

ROSA, P.C.; PEIRÓ, J.R.; CAMPEBELL, C.A.A. et al. Effects of diclofenac and dexamethasone on horse experimental endotoxemia. **Arq. Bras. Med. Vet Zootec.**, v. 55, p. 279-286, 2003.

ROSA, P.C.S., et al. Peritoneal fluid and clinical evaluation of NSAID on endotoxemia in horses. In: EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM 6., 1998, Athens. **Proceedings...** p. 56.

ROSA, P.C.S **Alterações sistêmicas e do fluido peritoneal na endotoxemia experimentalmente induzida em equinos por lipolissacarídeo (LPS) de Escherichia coli. Efeito de drogas antiinflamatórias.** 1997. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

RUGGLES, A.J., et al. Changes in fluid composition on the serosal surface of jejunum and small colon subjected to venous strangulation obstruction in pôneis. **Am. J. Vet. Res.**, v. 54, n. 2, p. 333-340, 1993.

SALARIS, S.C.; BABS, C.F.; VOORHEES, W.D. Methylene blue as an inhibitor of superoxide generation by xantine-oxidase: a potential new drug for the attenuation of ischemia/reperfusion injury. **Biochem. Pharmacol.** v. 42, n. 3, p. 499-506, 1991.

SCOTTI, R.; LIMA, E.C.; BENVENUTI, E.V.; PIATNICKI, C.M.S.; YOSHITAKA, S.L.P.; KUBOTA, L.T. Azul de metileno imobilizado na celulose/TiO<sub>2</sub> E SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>: Propriedades eletroquímicas e planejamento fatorial. **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 208-212, 2006.

SEARLE, A. Endotoxemia – a therapeutic challenge. **Aust. Vet. Pract.**, Bondi, v. 19, n. 4, p. 228-29, 1989.

SEETHANATHAN, P.; BOTTOMS, G.D.; SCHAFER, K. Characterization of release of tumor necrosis factor, interleukin-1, and superoxide anion from equine white blood cells in response to endotoxin. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 51, n. 8, p. 1221-1225, 1990.

SCHATZMANN, U. 2000: Practical analgesic treatment in horses. In: Hellebrekers, L. J. (eds), **Animal Pain**, p. 161–179. Van der Wees, Utrecht, NL.

SHIRES, G.M. Equine colic surgery. In: JENNINGS, P.B (Ed). **The practice of large animal surgery**. Philadelphia: Saunders, 1984. p.664-680.

SILVA, M.A.M.; SILVA, L.A.F.; JORGE, P.M.B.; et al. Peritonite fibrinosa após infusão intraperitoneal de azul de metileno a 1% em cadelas submetidas a ovariectomia: relato de três casos. In: **Combravet**, 2007. 1 CD-ROM.

SILVA, C.F.G.K.T. **Valores hematológicos, bioquímicos e exame do líquido peritoneal de equinos (Equus caballus, Linnaeus 1758) durante síndrome cólica**. 81f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

SMITH, T. A. Polyamines. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 36, p. 117-143, 1985.

SMITH, D.F. Presurgical care of the equine colic patient. **Cornell Vet.**, Ithaca, v. 68, Supl. 7, p. 113-21, 1978.

SPEIRS, V.C. **The alimentary tract: clinical examination of horses**. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 261-298, 1997.

SPIER, S.J.; SNYDER, J.R. Physical and laboratory evaluations of the horse with colic. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine 3**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. p. 193.

SPROUSE, R.F.; GARNER, H.E.; GREEN, E.M. Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. **Equine Vet. J.**, v. 19, n. 1, p. 25-28, 1987.

SPURLOCK, G.H. et al. Effect of endotoxin administration on body fluid compartments in the horse. **Am. J. Vet. Res.**, v. 46, n. 1, p. 1117-1120, 1985.

STEVERINK, J.G.; STURK, A.; SALDEN, H.J. Platelet-poor plasma not suitable for clinical endotoxin testing, demonstrated in horses (letter). **Clin. Chem.**, v. 40, n. 7, p. 1346-1347, 1994.

STOCHE, R.M.; GARCIA, L.V.; REIS, M.P.; KLAMT, J.G.; EVORA, P.R.B. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 54, n. 6, p. 909-914, 2004.

SUSKO, I. **Modelo experimental de obstrução do terço médio do jejuno em equinos: avaliações clínicas, hematológicas, bioquímicas, hidro-eletrolíticas, do equilíbrio ácido-base e anátomo-patológicas.** 204 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1993.

TAMZALI, Y. [GUELFY, J.F.](#); [BRAUN, J.P.](#) Plasma fibrinogen measurement in the horse: comparison of Millar's technique with a chronometric technique and the QBC-Vet Autoreader. **Research in Veterinary Science**, London, v. 71, n. 3, p. 213-217, 2001.

TETENS, J., et al. Effects of ATP-MGCL2 on clinical signs, haemodynamic, metabolic, haematological and serum biochemical variables and TNF- $\alpha$ , IL-6 and endothelium-1 in horses administered low-dose endotoxin. In: INTERNATIONAL EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM 7., 2002, Manchester. **Proceedings...** p. 131-132, 2002.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos.** Livraria Varela. 4 ed. 2005. 573 p.

THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária.** Roca: Sao Paulo, 582p. 2007.

TULLENERS, E.P.; Complications of abdominocentesis in the horse. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 182, p. 232-234, 1983.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte.** São Paulo: Editora Roca, 1982. p.11.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte.** São Paulo: Editora Roca, 2002.

URIBE, A.D.P.D. **Descrição de uma técnica cirúrgica para canulação do ceco em equinos e avaliação das suas repercussões clínicas, hematológicas e peritoneais.** 2004. 66 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) -

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

VALADÃO, C.A.A. et al. Evaluation of peritoneal fluid in horses with experimental endotoxemia. **J. Equine Vet Sci.**, Wildomar, v. 15, n. 3, p. 124-128, 1995.

VALADÃO, C.A.A. et al. Aspectos bioquímicos do plasma e fluido peritoneal de equinos com cólica. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v.33, n.1, p.32-35, 1996.

VALENTE, P.P. **Estudo comparativo de aspectos hemáticos e de características físico-químicas e citológicas do fluido peritoneal de equinos submetidos a enterorragias em planos aposicional e invaginante no cólon descendente.** 170f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

WARD, D.S. et al., Equina endotoxina: cardiovascular, eicosanoid, hematologic, blood chemical, and plasma enzyme alterations. **Am. J. Vet. Res.**, v. 48, n. 7, p. 1150-1156, 1987.

WEINBROUN, A.A.; GOLDIN, I.; KLUGER, Y.; SZOLD, A. Methylene blue in hemodynamic and metabolic derangement following superior mesenteric artery clamping/unclamping: in intratracheal vs. intraperitoneal dose response study. **Shock.** v. 17, n. 5, p. 372 –376, 2002.

WHITE, N.A. Alterations in the intestines during obstruction and ischemia. In: CICLO INTERNACIONAL DE CÓLICA EQUINA, 2, 1995, Jaboticabal. **Anais.** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. 1995. 54p. p. 39-47.

WHITE, N.A. Epidemiology and etiology of colic. In: WHITE, N.A. (Ed). **The equine acute abdomen.** Philadelphia : Lea & Febiger, 1990. p. 49-64.

WHITE, N.A., MOORE, J.N., TRIM, C.M. Mucosal alteration in experimentally induced small intestinal strangulation in ponies. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v. 42, n. 2, p. 193-198, 1980.

WILSON, D.V.; PATTERSON, J.S.; STICK, J.A. et al. Histologic and ultrastructural changes after large-colon torsion, with and without use of a specific platelet-activating factor antagonist (WEB 2086), in ponies. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 55, n. 5, p. 681-688, 1994.

WILSON, J., GORDON, B. Equine colic: interpreting the diagnostic test. **Vet. Med.**, Bonner Springs, v. 82, p. 629-645, 1987.

WONG, J.M.; BILLIAR, T.R. Regulation and function of inducible nitric oxide synthase during sepsis and acute inflammation. **Adv. Pharmacol.**, v. 34, p. 155-170, 1995.

YOSHIDA, W.B.; TARDINI, D.M. Lesões cerebrais decorrentes de isquemia e reperfusão na cirurgia de endarterectomia de carótida. **J. Vasc. Br.**, v. 2, n. 2, p. 119-128, 2003.

ZABEL, D.D.; HOPF, H.W.; HUNT, T.K. Transmural gut oxygen gradients in shocked rats resuscitated with heparan. **Arch Surg.**, n. 130, p. 59-63, 1995.

ZANG, G. et al. Toll-like receptor-mediated NF-kappaB activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. **J. Clin. Invest.**, v. 107, p. 13-19, 2001.

ZHANG, H.; ROGIERS, P.; PREISER, J.C.; SPAPEN, H.; MANIKIS, P.; METZ, G.; VINCENT, J.L. Effects of methylene blue on oxygen availability and blood flow during endotoxic shock... **Crit. Care Med.** v. 23, n. 10, p. 1711-1721, 1995.

ZIMMERMAN, B.J., GRANGER, D.N. Reperfusion injury. **Surg. Clin. North Am.**, v. 72, n. 1, p. 65-83, 1992.