UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Thalita Leone Alves Rocha

Efeitos da interação da doxiciclina e adrenomedulina na embolia pulmonar aguda em ovinos anestesiados

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Anestesiologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior
Coorientador: Prof. Dr. Francisco José Teixeira Neto

Botucatu
2016

Thalita Leone Alves Rocha

Efeitos da interação da doxiciclina e adrenomedulina na embolia pulmonar aguda em ovinos anestesiados

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Anestesiologia.

Orientador: Prof.Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior
Coorientador: Prof. Dr. Francisco José Teixeira Neto

Botucatu
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Rocha, Thalita Leone Alves.
Efeitos da interação da doxiciclina e adrenomedulina na embolia pulmonar aguda em ovinos anestesiados / Thalita Leone Alves Rocha. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Carlos Alan Candido Dias Junior
Coorientador: Francisco José Teixeira Neto
Capes: 40102130

1. Ovino - Doenças. 2. Doxiciclina. 3. Hipertensão pulmonar. 4. Embolia pulmonar. 5. Metaloproteases. 6. Matriz extracelular.

Palavras-chave: Adrenomedulina; Doxiciclina; Embolia pulmonar aguda; Hipertensão pulmonar; Metaloproteinases de matriz extracelular.

Thalita Leone Alves Rocha

Efeitos da interação da doxiciclina e adrenomedulina na embolia pulmonar aguda em ovinos anestesiados

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de mestre.

Comissão examinadora

_____

Profa. Dra. Valéria Cristina Sandrim
Universidade Estadual Paulista (UNESP)

_____

Profa. Dra. Michele Mazzaron de Castro
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP)

_____

Prof. Dr Carlos Alan Candido Dias Junior
Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP)

Botucatu, 29 de Fevereiro de 2016.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser meu mestre e meu guia nessa caminhada terrena. A minha mãe Mônica, meu pai Ricardo e ao meu "segundo pai" Sérgio, pela dedicação absoluta a minha educação e por sempre acreditarem no meu potencial.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*A toda minha **família** pelo carinho e amor incondicional. Por me ajudarem a superar os momentos difíceis e por sempre torcerem por mim nos períodos de transformação e novos desafios.*

*Ao **Prof. Carlos Alan Candido Dias Junior**, por esses dois anos de orientação. Por toda confiança em mim depositada desde o início, e por ter apostado em meu crescimento. Por ser esse grande exemplo de profissionalismo, determinação, simplicidade e humildade. Minha eterna gratidão pelos ensinamentos, pelo apoio e amizade.*

*Ao **Prof. Francisco José Teixeira Neto**, pela co-orientação deste trabalho. Por ter me ensinado tanto sobre a ciência e como pratica-la da melhor forma. Foi um prazer fazer parte da sua equipe.*

*Ao meu namorado **Leonardo**, pelo companheirismo, amor, carinho, dedicação, compreensão, alegria e bom humor. Muito obrigada por tornar minha vida mais leve e feliz.*

AGRADECIMENTOS

*As minhas queridas "patetas" **Miriely** (Miri), **Nathalia** (Nath), **Sofia** (Sofis) **e Jéssica** (Espertinha), por fazerem parte da minha vida nesses dois anos. Por toda amizade, companheirismo, trapalhadas e risadas. E por serem as melhores anestesistas que eu já conheci. Vocês são incríveis.*

*Aos meus queridos amigos de laboratório **Victor, Regina, Zé** e **Hélio**, pela amizade e companheirismo.*

*Aos meus amigos pós-graduandos: **Diana, Angie e Zé**, agradeço pela amizade, apoio e ajuda imprescindível. Foi uma grande alegria trabalhar com vocês.*

*A **Tatiane**, por ser sempre muito prestativa e disposta em ajudar no que fosse preciso*

*A **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro durante o mestrado.*

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse concretizado.

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."

(José de Alencar)

Resumo

ROCHA, T. L. A. **Efeitos da interação da doxiciclina e adrenomodulina na embolia pulmonar aguda em ovinos anestesiados**. 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado em Anestesiologia) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

As metaloproteinases de matriz extracelular (MMPs) podem limitar a vasodilatação pulmonar e os efeitos inotrópicos positivos promovidos pela adrenomedulina durante a hipertensão pulmonar. O presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da administração combinada da doxiciclina (inibidor não seletivo das MMPs) e da adrenomedulina sobre as alterações hemodinâmicas observadas durante a embolia pulmonar aguda em ovinos. Alterações hemodinâmicas e respiratórias foram mensuradas em ovinos anestesiados, pré-tratados com doxiciclina (10 mg/kg por via intravenosa), submetidos à EPA induzida pela injeção intravenosa (IV) de microesferas de silicone (500 mg) e posteriormente tratados com solução salina (grupo Dox+PE) ou adrenomedulina (50 ng/kg/min) (grupo Dox+PE+Adm). Os resultados deste estudo foram comparados com grupos históricos recentemente publicados por nosso grupo de pesquisa, realizados sob as mesmas condições experimentais, onde foram utilizados ovinos anestesiados não submetidos a qualquer intervenção (grupo Sham) ou submetidos à EPA e tratados com solução salina (grupo PE) ou com adrenomedulina (50 ng/kg/min) (grupo PE+Adm). Doxiciclina não

produziu efeitos adicionais sobre as diminuições significativas no índice de resistência vascular pulmonar e aumento no índice cardíaco (ambos em 25%) observadas com o uso da adrenomedulina (grupo PE+Adm). A administração da adrenomedulina (grupo PE+Adm e Dox+PE+Adm) diminuiu significativamente a pressão arterial média e o índice de resistência vascular sistêmica, levando a uma hipotensão sistêmica moderada. Reduções significativas na pressão parcial de oxigênio arterial foram observadas após a doxiciclina e a EPA, que não foram afetadas pela administração da adrenomedulina. Estes resultados demonstram que a administração combinada da doxiciclina e adrenomedulina não traz benefícios hemodinâmicos adicionais quando comparada ao uso isolado da adrenomedulina, sugerindo que está combinação não se apresenta vantajosa durante a EPA induzida por microesferas.

Palavras Chave: adrenomedulina, metaloproteinases de matriz extracelular, embolia pulmonar aguda, hipertensão pulmonar, doxiciclina.

Abstract

ROCHA, T. L. A. **Effects of the interaction of doxycycline and adrenomedullin in acute pulmonary embolism in anesthetized sheep**. 2016. 84 f. Thesis (Master in Anesthesiology) – School of Medicine, São Paulo State University, Botucatu, 2015.

Matrix metalloproteinases (MMPs) may limit severely the pulmonary vasodilatory and inotropic effects of adrenomedullin during pulmonary hypertension. Hemodynamic and respiratory changes were measured in anesthetized bovine pre-treated with doxycycline (10 mg/kg intravenously), subjected to APE induced by intravenous injection of silicone microspheres (500 mg) and subsequently treated with physiological saline (Dox+PE group) or adrenomedullin (50 ng / kg / min) (Dox+PE+ Adm group). The results were compared with historical group recently published by our research group, carried out under the same experimental conditions, where anesthetized sheep were used not subjected to any intervention (Sham group) or subjected to APE, and treated with physiological saline (PE group) or with adrenomedullin (50 ng / kg / min) (PE+Adm Group). Doxycycline produced no effect on significant temporal decreases in pulmonary vascular resistance index and increases in cardiac index (both by 25%) observed with adrenomedullin. The administration of adrenomedullin significantly decreased mean arterial pressure and systemic vascular resistance index, leading to a moderate systemic hypotension. Significant decreases in arterial oxygen partial pressure were

observed after doxycycline or APE, but these changes were not affected by adrenomedullin. These results demonstrate that the combined administration of doxycycline and adrenomedullin does not provide additional hemodynamic benefits when compared to isolated use of adrenomedullin, suggesting that this combination does not appear advantageous for the APE-induced microspheres.

Keywords: Adrenomedullin, extracellular matrix metalloproteinases, acute pulmonary embolism, pulmonary hypertension, doxycycline.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ação da MMP-2 sobre a adrenomedulina 29

Figura 2: Protocolo experimental..... 39

Figura 3: Variáveis hemodinâmicas 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis respiratórias.....47

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPc - monofosfato cíclico de adenosina

ASC - área de superfície corpórea

CGRP - peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

DC - débito cardíaco

Dox+PE - grupo doxiciclina+embolia

Dox_{15} - 15 minutos após a doxiciclina

Dox_{30} - 30 minutos após a doxiciclina

Doxi+PE+Adm - grupo doxiciclina+embolia+adrenomedulina

ECG - eletrocardiograma

EPA - embolia pulmonar aguda

$ETCO_2$ - pressão parcial de gás carbônico no final da expiração

FC - frequência cardíaca

GMPc - monofosfato cíclico de guanosina

IC - índice cardíaco

IRVP - índice de resistência vascular pulmonar

IRVS - índice de resistência vascular sistêmica

IV - intravenoso

MEC - matriz extracelular

MMPs - metaloproteinases de matriz extracelular

PaCO2 - pressão parcial de dióxido de carbono arterial

PAM - pressão arterial média

PaO_2 - pressão parcial de oxigênio arterial

PAP - pressão arterial pulmonar

PE - grupo embolia

PE+Adm - grupo embolia+adrenomedulina

PE_{15} - 15 minutos após a embolização pulmonar

PE_{30} - 30 minutos após a embolização pulmonar

PMAP - pressão média da artéria pulmonar

POAP - pressão de oclusão da artéria pulmonar

PT_{15} - 15 minutos pós-tratamento

PT_{30} - 30 minutos pós-tratamento

PVC - pressão venosa central

SUMÀRIO

INTRODUÇÃO 17

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20

2.1 Fisiologia da circulação pulmonar 20

2.2 Hipertensão pulmonar durante embolia pulmonar aguda 22

2.3 Disfunção ventricular direita durante embolia pulmonar aguda 23

2.4 Adrenomedulina 24

2.5 Metaloproteinases de matriz extracelular 26

2.6 Doxiciclina na embolia pulmonar aguda 29

JUSTIFICATIVA/OBJETIVO 32

MATERIAIS E MÉTODOS 34

4.1 Animais 34

4.2 Preparo dos animais e anestesia 34

4.3 Monitoração Hemodinâmica 35

4.4 Grupos experimentais 37

4.5 Protocolo experimental 38

4.6 Análise estatística 40

RESULTADOS 43

DISCUSSÃO 49

CONCLUSÃO 55

REFERÊNCIAS 57

APÊNDICE 65

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A embolia pulmonar aguda (EPA) é uma condição clínica grave, de grande prevalência e elevada taxa de mortalidade, que resulta da obstrução do leito arterial pulmonar por coágulos (êmbolos) oriundos, principalmente, do sistema venoso profundo dos membros inferiores. Nos EUA, estima-se que anualmente cerca de 50.000 a 200.000 pacientes, acometidos por EPA, evoluem para o óbito (RIEDEL, 2001; WOOD, 2002; SADOSTY; BOIE et al., 2003), tornando essa enfermidade a terceira maior causa de morte entre os americanos. A hipertensão pulmonar, ocasionada pelo súbito aumento da resistência vascular pulmonar (RVP), e o consequente desenvolvimento de insuficiência ventricular direita são um dos principais fatores determinantes de morte após a instalação da EPA (SMULDERS, 2001; SANCHEZ et al., 2008).

A terapia usualmente utilizada em situações de EPA tem como principal alvo à remoção dos êmbolos que provocam a obstrução mecânica da vasculatura pulmonar, o que inclui, cuidados de suporte, administração de anticoagulantes, trombólise sistêmica e embolectomia cirúrgica (SADOSTY; BOIE et al., 2003; PENALOZA et al., 2012). Embora recentemente tenha sido destacada a relevância da vasoconstrição arterial pulmonar que ocorre imediatamente após a EPA (SMULDERS, 2001), ainda são poucos os estudos que têm abordado a hipótese de que a combinação de fármacos que atenuam a hipertensão pulmonar e que melhoram o débito cardíaco podem produzir efeitos benéficos

complementares, melhorando a sobrevida dos pacientes com EPA (SMULDERS, 2000).

Estudos prévios têm demonstrado que a administração intravenosa da adrenomedulina induz redução da resistência vascular pulmonar e aumenta o índice cardíaco após hipertensão pulmonar em humanos e em ovinos com endotoxemia ou EPA (NAGAYA et al., 2000; ERTMER et al., 2007; LAGOS-CARVAJAL et al., 2015). Esses achados suportam a hipótese de que a adrenomedulina pode ser um adjuvante promissor na abordagem terapêutica utilizada no tratamento de hipertensão pulmonar aguda.

De maneira interessante, tem sido sugerido que a adrenomedulina pode ser degradada pelas metaloproteinases de matriz (MMPs), resultando na inibição do seu efeito vasodilatador (MARTINEZ et al., 2004). Além disso, a inibição das MMPs com doxiciclina (inibidor não seletivo das MMPs) foi associada a menores reduções na circulação da adrenomedulina e, a diminuição da hipertensão em ratos (NASCIMENTO et al., 2014).

Adicionalmente, a ativação das MMPs tem sido implicada no desenvolvimento da hipertensão pulmonar induzida por EPA (FORTUNA et al., 2007; MÜHL et al., 2007; CAU et al., 2013), uma vez que a inibição delas pela doxiciclina produziu efeitos benéficos sobre os distúrbios hemodinâmicos instalados após EPA (NETO-NEVES et al., 2013a).

Diante do exposto acima, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos hemodinâmicos do uso combinado da doxiciclina e da

adrenomedulina durante a hipertensão pulmonar induzida por EPA.

Revisão Bibliográfica

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fisiologia da circulação pulmonar

A circulação pulmonar possui algumas particularidades que a diferencia, em certos aspectos, da circulação sistêmica. O leito vascular pulmonar, ao contrário do sistêmico, caracteriza-se por ser um circuito de baixa pressão e elevada capacitância, que lhe permite acomodar grandes aumentos do fluxo sanguíneo ao custo de elevações discretas na pressão arterial pulmonar (PAP) (ELLIOT, 1992; BARNES, 1995). Esta habilidade se deve, fundamentalmente, ao recrutamento de capilares e arteríolas presentes em áreas do pulmão que são ventiladas, porém pouco perfundidas, denominadas de zonas pulmonares tipo I de West (WEST, 1977) Além disso, os vasos pulmonares são finos e distensíveis, o que dá a árvore pulmonar grande complacência (REEVES; RUBIN, 1998)

Embora o volume de sangue que passa pelos pulmões seja essencialmente igual ao da circulação sistêmica, ou seja, igual ao DC, à pressão da artéria pulmonar representa apenas, aproximadamente, 1/6 da pressão arterial sistêmica (LUMB, 2005). Em indivíduos sadios e ao nível do mar, a pressão média da artéria pulmonar (PMAP), considerada normal, é de aproximadamente 12 a 16 mmHg e a resistência vascular pulmonar (RVP) menor que 320 dinas.s.cm^{-5} (ELLIOT, 1992; WOOD, 2002).

Existem vários fatores que podem interferir na resistência vascular pulmonar e, consequentemente, na pressão arterial pulmonar

(LUALDI; GOLDHABER, 1995; SMULDERS, 2000; SMULDERS, 2001). Um dos mais importantes a ser analisado é a vasoconstrição pulmonar hipóxica. Esse fenômeno ocorre quando a concentração de oxigênio no interior dos alvéolos cai abaixo do normal (pressão arterial de oxigênio (PaO_2) abaixo de 73 mmHg) fazendo com que os vasos sanguíneos adjacentes se contraiam na tentativa de impedir a desoxigenação sanguínea. Essa contração, que tem como intuito distribuir o fluxo sanguíneo para áreas dos pulmões melhores ventiladas, pode levar a aumentos na RVP que chegam a atingir valores até cinco vezes maiores do que os valores fisiológicos. Curiosamente, esse efeito é oposto ao observado nos vasos sistêmicos, que se dilatam em resposta à baixa do oxigênio (DANTZKER; WAGNER et al., 1978; VOELKEL; TUDER, 2000; SOMMER, 2008).

Adicionalmente, os vasos sanguíneos pulmonares apresentam células endoteliais capazes de regular o tônus vasomotor por meio da liberação de diversos mediadores vasoativos e agentes que afetam o crescimento e a diferenciação das células que compõem os vasos (ELLIOT, 1992). Dentre esses compostos vasoativos, alguns possuem função vasodilatadora como o óxido nítrico e as prostaciclinas e outros função vasoconstrictora como a endotelina 1 (ET-1), angiotensina II (Ang II) e tromboxano A2 (TxA2). Anormalidades na produção ou degradação destes mediadores podem resultar em elevação da RVP e, consequentemente a hipertensão pulmonar (HP) (RIEDEL, 2001).

2.2 Hipertensão pulmonar durante a EPA

O quadro de hipertensão pulmonar se caracterizada por apresentar valores de PMAP acima de 25 mmHg em repouso, ou 30 mmHg durante o exercício e valores de RVP superiores a 320 dinas.seg.cm-5 (WOOD, 2002).

Na EPA, a obstrução mecânica do leito vascular pulmonar leva ao aumento da PAP devido à súbita elevação da RVP. A magnitude desse aumento dependerá tanto do tamanho e do número de êmbolos localizados nos vasos sanguíneos pulmonares, como também do grau de obstrução da rede arterial pulmonar (PENALOZA et al., 2012; GOLDHABER; ELLIOT, 2013; RIEDEL, 2001). Em pacientes previamente hígidos a pressão da artéria pulmonar aumenta consideravelmente apenas em casos onde a obstrução compromete acima de 50% do leito arterial pulmonar. Entretanto, em doenças cardiovasculares preexistentes a presença de êmbolos relativamente menores é capaz de resultar em instabilidade hemodinâmica significativa (RIEDEL, 2001).

Embora a obstrução física do fluxo sanguíneo pulmonar seja o principal mecanismo responsável pela HP durante a EPA, existem outros fatores que contribuem para o agravamento do quadro clínico São eles: a liberação de substâncias vasoconstritoras e a vasoconstrição pulmonar hipóxica, já mencionada anteriormente (LUALDI; GOLDHABER, 1995; STRATMANN; GREGORY, 2003).

Sabe-se, que a influência de mediadores vasoativos, liberados por estímulos neurais e humorais, é um fator importante na severidade da

hipertensão pulmonar e do distúrbio hemodinâmico observado em pacientes com EPA. (SMULDERS, 2000; STRATMANN; GREGORY, 2003). Segundo a literatura, uma vez que o êmbolo obstrui a vasculatura pulmonar, se inicia uma série de eventos complexos que levam ao aumento na liberação de agentes vasoconstritores e pró-coagulantes, bem como a diminuição da concentração de substâncias vasodilatadoras (SMULDERS, 2001; WOOD, 2002; STRATMANN; GREGORY, 2003). Dentre os vasoconstritores liberados, a serotonina e o tromboxano A2 são, provavelmente, os mais importantes nos quadros de EPA. A elevação dos níveis séricos desses dois agentes acompanha a queda do número de plaquetas circulantes, sugerindo que sua origem esteja na agregação plaquetária resultante dos processos tromboembólicos. (UTSONOMIYA et al., 1982; REEVES; DEMERS, 1983; STRATMANN; GREGORY, 2003).

De maneira similar, a embolia pulmonar pode desencadear vasoconstrição pulmonar generalizada de origem neurogênica. Apesar deste mecanismo não estar totalmente esclarecido, acredita-se que haja o envolvimento dos nervos simpáticos eferentes e das inervações parassimpática e de NANC (não adrenérgica e não colinérgicos) (STRATMANN; GREGORY, 2003; DEN et al., 2014).

2.3 Disfunção ventricular direita durante EPA

A EPA provoca uma série de consequências hemodinâmicas imediatas ou inter-relacionadas que, como visto acima, é proporcional a magnitude da obstrução do leito vascular pulmonar. A insuficiência

cardíaca direita é a consequência mais importante da HP e continua a ser a causa mais frequente de morte em pacientes com EPA (PENALOZA et al., 2012; GOLDHABER; ELLIOT, 2013; RIEDEL, 2001).

A insuficiência ventricular direita ocorre devido aos incrementos na PAP e da RVP, causados pelos êmbolos e pela reposta neuro-humoral, que levam a um aumento significativo na pós-carga ventricular direita e, consequentemente a uma maior tensão sobre a parede do ventrículo direito (VD). Isso resulta em dilatação e disfunção ventricular direita que, por fim, levam a diminuição do débito do VD (LUALDI; GOLDHABER, 1995). O desvio do septo interventricular, promovido pela dilatação do VD, associado à diminuição do débito do VD prejudicam o preenchimento da câmara ventricular esquerda que, compromete o débito cardíaco (DC) e a pressão arterial sistêmica, assim como a perfusão coronariana e a oferta de oxigênio, produzindo isquemia do miocárdio (JARDIN et al., 1987; PIAZZA; GOLDHABER, 2010).

Todo esse processo se dá em razão do VD não estar preparado para suportar os súbitos aumentos de pressão, imposta pela circulação pulmonar hipertensa, geralmente observada nos eventos pulmonares embólicos (MEBAZAA et al., 2004).

2.4 Adrenomedulina

A adrenomedulina é um potente peptídeo vasodilatador, que foi descoberto inicialmente em tumores das células cromafins, presentes na medula supra-renal humana, denominado feocromocitoma (KITAMURA,

1993). Esse peptídeo é composto por 52 aminoácidos, sendo estruturalmente similar ao peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP – *calcitonin gene-related peptide*) (RICHARD et al., 2000; HINSON et al., 2000; BELTOWSKI; JAMROZ, 2004).

A adrenomedulina encontra-se amplamente distribuída pelo corpo, estando seu gene expresso em uma variedade de tecidos, tais como: rins, átrios, ventrículos e pulmão (HINSON et al., 2000; WESTPHAL et al., 2004) . Além disso, a adrenomedulina é sintetizada e secretada por células endoteliais e da musculatura lisa vascular presentes tanto na circulação pulmonar como na sistêmica (WESTPHAL et al., 2004).

O reconhecimento de um grande número de sítios de ligação da adrenomedulina, no miocárdio ventricular e no pulmão, tem sustentado a hipótese de que este peptídeo desempenha um papel importante na regulação da contratilidade miocárdica e do tônus vascular pulmonar (LIPPTON et al., 1986; OWJI et al., 1995; NAGAYA et al., 2003). Adicionalmente, níveis elevados de adrenomedulina foram observados no plasma de pacientes com hipertensão pulmonar (NAGAYA el al., 2000), sugerindo que o organismo pode dispor da liberação desse peptídeo para contra balancear o intenso aumento da pressão nos vasos pulmonares.

Em razão de sua ação vasodilatadora pulmonar e inotrópica positiva, a adrenomedulina tem se mostrado um fármaco com grande potencial terapêutico em diversas condições patológicas, inclusive na EPA. Estudos anteriores têm demonstrado que o uso intravenoso da adrenomedulina (50 ng / kg / min) induz melhora do índice cardíaco, além

de reduzir o índice de resistência vascular pulmonar, em pacientes com HP (NAGAYA et al., 2003) e ovinos submetidos à endotoxemia (ERTMER et al., 2007). Resultados similares foram encontrados recentemente por nosso grupo de pesquisa, onde a administração IV da adrenomedulina também produziu diminuição significativa da RVP e aumento do índice cardíaco, ambos em 25%, após HP induzida por APE em ovinos anestesiados (LAGOS-CARJAVAL et al., 2015).

Embora o mecanismo de ação da adrenomedulina possa diferir de acordo com a espécie animal e do tecido do organismo, acredita-se que seus efeitos vasodilatadores sejam mediados, principalmente, pelos aumentos na síntese do AMPc (NISHIKIMI et al., 1998). Foi verificado que a membrana das células musculares lisas vasculares apresenta um receptor de sete domínios transmembranares, acoplado a adenilato ciclase, específico para adrenomedulina que quando ocupado estimula a produção do AMP cíclico (KAPAS et al., 1995; HINSON et al., 2000), um importante mensageiro intracelular responsável pelo relaxamento da musculatura.

Outro possível mecanismo de ação da adrenomedulina envolve a ativação da sintase endotelial do óxido nítrico e a formação de GMP cíclico (SZOKODI e al., 1998; HAYAKAWA et al., 1999).

2.5 Metaloproteinases da matriz extracelular

As metaloproteinases (MMPs) constituem uma família de enzimas proteolíticas, zinco dependentes, cuja função é a degradação de

vários componentes da matriz extracelular (MEC). Essas enzimas são responsáveis por mediar uma ampla variedade de processos biológicos, tais como: desenvolvimento embrionário, angiogênese, reparação tecidual, cicatrização de feridas, entre outros (LI et al., 2000; VANHOUTTE et al., 2006; KUPAI et al., 2010).

Baseado em sua afinidade por determinados substratos que degradam, as MMPs podem ser classificadas em colagenases, gelatinases, estromelisinas, matrilisinas e MMPs de membrana (GEURTS et al., 2011). Em geral, elas são compostas por uma mesma estrutura, contendo pré e pós-domínios, seguidos de um domínio catalítico e uma porção C terminal. O domínio catalítico é uma região altamente conservada, onde ocorre à ligação de um íon zinco, essencial para a manutenção da atividade enzimática (SPINALE et al., 2000; PARKS et al., 2004; GEURTS et al,. 2011).

As MMPs são inicialmente secretadas como enzimas inativas, denominadas pró-enzimas ou zimogênios, que permanecem latentes até serem ativadas por clivagem proteolítica. (GEURTS et al., 2011). Esse processo requer a remoção do pró-peptídeo inibitório, permitindo o livre acesso do substrato ao sítio catalítico do zinco (Zn2+) (BIRKEDAL-HANSEN, 1995).

Embora as MMPS participem de uma série de processos fisiológicos, aumentos excessivos ou desequilibrados na atividade dessas enzimas têm sido relacionados a diversas condições patológicos tais como: hipertensão, aterosclerose, infarto do miocárdio, insuficiência

cardíaca, entre outras (DOLLERY et al., 1995; SPINALE et al., 2000; SPINALE, 2002; FATAR et al., 2005; SOUZA-COSTA et al., 2005; THOMPSON; COCKERILL, 2006; FORTUNA et al., 2007).

Alguns estudos têm demostrado que à ativação das MMPs, em especial da MMP-2 e a MMP-9, estão envolvidas na fisiopatologia da EPA (PALEI et al., 2005; FORTUNA et al., 2007; NETO-NEVES et al., 2011a; NETO-NEVES et al., 2011b). Essa afirmação tem sido apoiada por estudos que sugerem a participação de algumas MMPs na regulação do tônus vascular pulmonar. Neste contexto, há evidências apontando que as MMP-2 podem contribuir para formação de vasoconstritores, seja através da clivagem da Big endotelina-1 em endotelina-1 (importante vasoconstritor) (FERNANDEZ-PATRON et al., 1999) como da clivagem da adrenomedulina (Fig 2) em peptídeos menores eliminando assim sua a ação vasodilatadora e formando um outro peptídeo vasoconstrictor (Martinez et al. 2004). Além disso, a MMP-2 parece degradar o CGRP, um potente vasodilatador pulmonar (FERNANDEZ-PATRON et al., 2000). Esses efeitos sobre alguns peptídeos vasoativos sugerem que as MMPs podem participar do controle do tônus vascular pulmonar, favorecendo a vasoconstrição e prejudicando a atuação de mediadores vasodilatadores, contribuindo, dessa forma, para o agravamento da hipertensão pulmonar induzida por EPA.

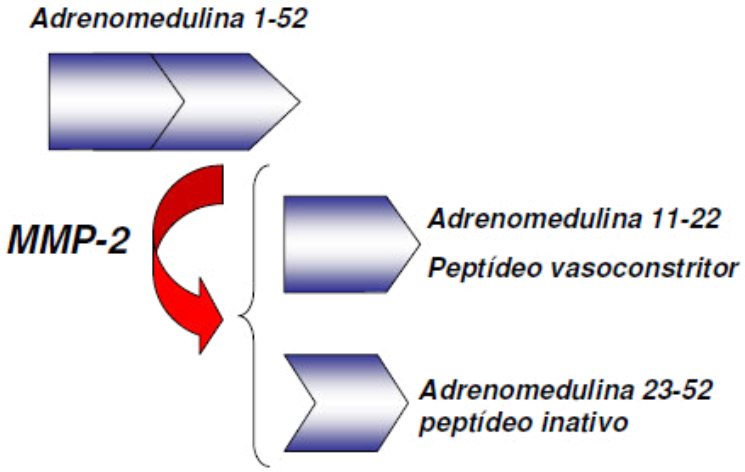

Figura 1. Ilustração das ações da MMPs 2 sobre a adrenomedulina. A ativação das MMP-2 pode clivar a adrenomedulina em dois peptídeos menores. Adaptado de Martinez el al., 2004.

2.6 Doxiciclina na EPA

A inibição das MMPs tem se mostrado uma estratégia terapêutica interessante em vários quadros patológicos. Por esse motivo, os inibidores farmacológicos das MMPs têm sido, nos últimos anos, extensivamente estudados.

A doxiciclina é um antibiótico da classe das tetraciclinas que possui, além da atividade antimicrobiana, a habilidade de inibir de maneira não seletiva as MMPs (SCHULZ, 2007). Esse efeito é atribuido a capacidade que esse fármaco possui em quelar o zinco presente na estrutura e no sitio catalitico das MMPs, impedindo, dessa forma, sua ativação (GOLUB et al., 1998).

Além de ser considerado o mais potente inibidor das MMPs, dentre as tetraciclinas (GOLUB et al., 1998), a doxicilina é o único fármaco capaz de inibir as MMPs aprovado para uso clínico pelo FDA (*Food and*

Drug Administration) (SCHULZ, 2007).

Trabalhos recentes tem sugerido que a redução dos níveis plasmáticos das MMPs está associada à atenuação dos distúrbios hemodinâmicos instalados após EPA. Esses estudos demonstraram que a administração IV da doxiciclina atenuou a hipertensão pulmonar induzida por EPA tanto em ovinos como em cães (NETO-NEVES et al., 2013; FORTUNA et al., 2007). Adicionalmente, a inibição das MMPs pela doxiciclina produziu aumentos na taxa de sobrevivência de ratos embolizados (CAU et al., 2013).

Justificativa e Objetivo

3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVO

Levando-se em consideração que as MMPs podem clivar a adrenomedulina eliminando sua ação vasodilatadora e formando outro peptídeo vasoconstritor (MARTINEZ et al., 2004), temos como hipótese que a prévia inibição das metaloproteinases da matriz extracelular (MMPs) com a doxiciclina pode potencializar os efeitos da adrenomedulina, resultando na melhora dos distúrbios hemodinâmico instalado após embolia pulmonar aguda.

Para testar a hipótese acima mencionada o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da administração combinada da Doxiciclina e Adrenomedulina, via intravenosa, sobre as alterações hemodinâmicas observadas durante embolia pulmonar aguda em ovinos anestesiados.

Materiais e métodos

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

O protocolo e os procedimentos empregados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista - Botucatu (CEUA, IBB-UNESP), com o protocolo número 751 de 2015.

Foram utilizados dezesseis carneiros, sem raça definida, com peso médio de 36,3 ± 3,1 kg (média ± desvio padrão), provenientes de uma fazenda de criação de ovinos do Distrito de Rubião Junior, Botucatu-SP. Os animais foram considerados hígidos após a realização de um exame clínico feito por dois médicos veterinários e com base em valores de hematócrito e proteína plasmática total dentro do limite fisiológico para a espécie.

4.2. Preparo dos animais e anestesia

Dez dias antes da realização do experimento, os carneiros foram transferidos para o Hospital Veterinário da UNESP de Botucatu e alocados em baias com acesso a água, feno e ração. A vermifugação foi realizada por meio da administração de uma única dose de Levamisol (10 mg/kg), via subcutânea.

Após a realização de um jejum hídrico e alimentar 12 e 24 horas, respectivamente, os animais foram pré-medicados com fentanil IV, na dose de 5 µg/kg e posteriormente anestesiados com cetamina (7,5 mg/kg) e midazolam (0,35 mg/kg) administrados por meio de um cateter

14G posicionado na veia jugular direita. Em seguida, os animais foram intubados, posicionados em decúbito dorsal e conectados a um circuito circular valvular com fluxo de oxigênio de 1,5 L/min e uma FiO_2 > 0,9. A manutenção da anestesia foi realizada por meio de infusão contínua de cetamina (20mg/kg/h) e midazolam (0,25 mg/kg/h) utilizando-se uma bomba de infusão de seringa[1].

Durante todo procedimento realizou-se a ventilação mecânica[2] com um volume corrente de 15 ml/kg e relação inspiração/expiração de 1:2. A fim de se evitar competições respiratórias durante a ventilação, foi administrado, por via intravenosa, um bloqueador neuromuscular (Atracúrio - 0,3 mg/kg, seguido por IC de 0,5 mg/kg/h). A frequência respiratória foi ajustada de forma a se manter a normocapnia, ou seja, $PaCO_2$ entre 35 a 45 mmHg.

A administração de fluidoterapia (Solução de Ringer Lactato, 2mg/kg/h) e dos tratamentos experimentais (doxiciclina e solução fisiológica ou adrenomedulina), foi realizado por meio de um cateter 20G inserido em uma das veias cefálicas.

4.3. Monitoração hemodinâmica

Para a obtenção da medida direta da pressão arterial média (PAM), foi inserido um cateter 18G na artéria femoral. A veia jugular direita foi canulada para a introdução do cateter de Swan Ganz[3], cuja

---

[1] Digipump SR 8X, Digicare Biomedical Technology, Boynton Beach, USA.
[2] Dräger Primus, Drägerwerk AG & Co, Lübeck, Alemanha
[3] Swan-Ganz Catheter 7.5F – Edwards Critical Care Division, U.S.A.

extremidade distal foi posicionada em um dos ramos da artéria pulmonar. A certificação do posicionamento correto do cateter foi verificada por meio da observação, na tela do monitor multiparamétrico[4], de ondas características de pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP) e de pressão média da artéria pulmonar (PMAP). A pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP) foi obtida ao se inflar o balonete localizado na extremidade do cateter de Swan-Ganz com 0,7 ml de ar. O lúmen proximal do cateter posicionado na veia cava caudal foi utilizado para medir a pressão venosa central (PVC). O débito cardíaco (DC) foi mensurado em triplicata pela técnica de termodiluição pulmonar injetando-se 5ml de solução salina resfriada à 3-5 ºC. Para cada momento, o DC foi calculado com a média de três mensurações consecutivas que apresentassem diferenças menores que 10% entre seus valores. Todos os cateteres de pressão foram acoplados a transdutores[5] que foram zerados na altura da base do coração antes do início da coleta de dados.

A avaliação da frequência cardíaca (FC) foi realizada por meio do uso de um ECG de superfície (derivação DII) e a temperatura corpórea monitorada a partir do termistor presente no cateter de termodiluição.

A superfície corpórea, Índice Cardíaco (IC), Índice de Resistência Vascular Sistêmico (IRVS) e o Índice de Resistência Vascular Pulmonar (IRVP) foram calculados mediante ao emprego das seguintes fórmulas:

---

[4] Dixtal DX 2020, Dixtal Biomédica, Brasil

[5] Tru Wave PX 260, Edward Lifesciences, Irvine, USA

Superfície corpórea (m^2) = $peso^{0,67}$ x 0,09
IC ($mL/min/m^2$) = DC (mL) / superfície corpórea
IRVS ($dinas/seg/m^2/cm^{-5}$) = (PAM – PVC/IC) x 79.9
IRVP ($dinas/seg/m^2/cm^{-5}$) = (PMAP – POAP)/IC x 79.9

Amostras de sangue arterial do cateter posicionado na artéria femoral foram colhidas em seringas heparinizadas e imediatamente submetidas à análise hemogasométrica[6] para determinação dos valores de pH, pressão parcial de dióxido de carbono ($PaCO_2$) e pressão parcial de oxigênio (PaO_2). Estes valores foram corrigidos com base na temperatura do sangue na artéria pulmonar.

4.4. Grupos Experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais (n = 8 por grupo) como se segue:

Grupo Dox+PE: ovinos que receberam doxiciclina (10 mg / kg, IV), durante 10 min (NETO-NEVES et al., 2013) e 30 minutos depois foi induzida a EPA mediante a administração de 500 mg de microesferas de silicone[7] (300 µm de diâmetro), divididas em cinco injeções contendo 100 mg de microesferas diluídas em 10 mL de solução fisiológica. Após 30 minutos da embolização, os animais receberam 10 mL de solução fisiológica (placebo) durante 30 minutos.

[6] Aparelho de hemogasometria Siemens 348, São Paulo, Brasil
[7] Sephadex G50; Pharmacia Fine Chemicals; Uppsala, Suécia

Grupo Dox+PE+ADM: ovinos que receberam doxiciclina (mesma dose que o grupo Dox + PE), seguida 30 minutos mais tarde pela indução da EPA (conforme descrito acima). Após 30 minutos da embolização os animais receberam, no lugar da salina, uma infusão de adrenomedulina[8] (50 ng / kg / min, iv (ERTMER et al., 2007), mantida por 30 minutos através de uma bomba de seringa[9].

Para evitar o uso desnecessário de animais, os dados obtidos neste estudo foram comparados com dados publicados anteriormente por nosso grupo de pesquisa, realizados sob as mesmas condições experimentais e utilizando o mesmo modelo de EPA induzida por microesferas, sendo:

Grupo Sham: ovinos que não foram embolizados e que não receberam nenhum tratamento

Grupo PE: ovinos submetidos à EPA induzida por microesferas (conforme descrito anteriormente), seguido 30 minutos mais tarde por infusão de 10 mL de solução fisiológica (placebo), ao longo de 30 minutos.

Grupo PE+Adm: ovinos submetidos à EPA (conforme descrito anteriormente) que receberam 30 minutos após a indução da EPA a infusão de adrenomedulina, administrada na taxa de 50 ng/kg/min (70) ao longo de 30 minutos.

---

[8] Adrenomedulina humana, Bachem AG, Bubendorf, Suíça

[9] Pump 11 Elite, Harvard Apparatus, Holliston, MA

4.5. Protocolo Experimental

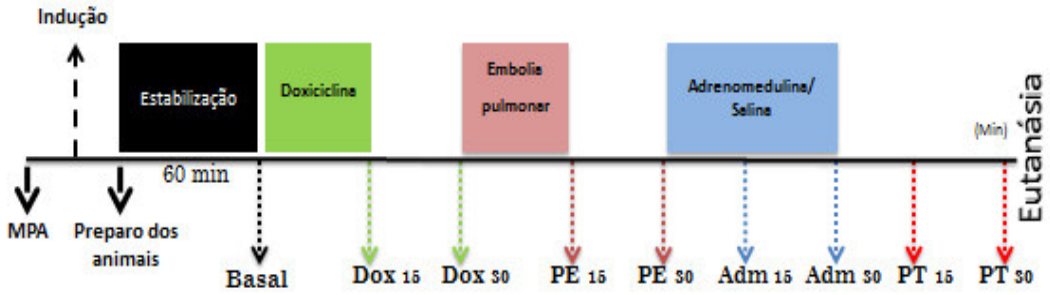

Figura 2. Protocolo experimental

Conforme representado no esquema acima, após anestesia, preparação dos animais e estabilização hemodinâmica por 60 min, foi coletada os parâmetros hemodinâmicos iniciais (Basal) e amostras de sangue arterial (em seringa heparinizada) para análise hemogasométrica.

Finalizada a coleta do momento basal (BL) os animais pertencentes aos grupos Doxi (Doxi+PE e Doxi+PE+Adm) receberam o pré-tratamento com doxiciclina (10 mg/kg). Novas medições foram realizadas 15 e 30 min após a administração da doxiciclina (Dox_{15} e Dox_{30}, respectivamente). Em seguida, foi induzida a embolia pulmonar aguda através de injeções intravenosas (a cada 15-30 segundos) de 10 ml solução fisiológica contendo microesferas de 300 µM de diâmetro. Dados hemodinâmicos foram colhidos 15 e 30 min após a indução da EPA (PE_{15} e PE_{30}, respectivamente). No grupo Dox + PE + Adm, 30 minutos após a indução da EPA, uma infusão de adrenomedulina por via intravenosa (50 ng / kg / min) foi mantida durante 30 minutos, enquanto que no grupo Dox + PE, um volume igual de solução salina fisiológica foi administrada como

placebo. Novos parâmetros foram coletados 15 e 30 minutos (Adm_{15} e Adm_{30}) após o início do tratamento com adrenomedulina ou com placebo (solução fisiológica) e após 15 e 30 minutos (PT_{15} e PT_{30}) do término da administração dos tratamentos.

Nos grupos Sham, PE e PE + Adm as coletas de dados foram iniciadas antes da indução da EPA (Dox_{30}). Os demais tempos de coleta coincidiram com os descritos anteriormente. Comparado a esses grupos, as avaliações cardiorrespiratórias nos grupos Dox + PE e Dox + PE + Adm foram realizados por mais 30 minutos antes da indução EPA (BL e Dox_{15}, respectivamente).

As amostras de sangue arterial para análise hemogasométrica foram colhidas nos momentos BL, Dox_{30}, PE_{30}, Adm_{30} e PT_{30}.

Ao final das avaliações hemodinâmicas, os animais receberam uma dose letal de tiopental sódico (30 mg/kg) seguida por cloreto de potássio (150 mg/kg) administrados IV, enquanto os ovinos ainda permaneciam anestesiados.

4.6. Análise estatística

As análises foram realizadas com a utilização de um software estatístico[10]. O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade da distribuição de dados. As variáveis hemodinâmicas e respiratórias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) de duas vias, com tempo e tratamento definidos como fatores de variação. O teste

[10] Prism 6.02; GraphPad, San Diego, CA

de Dunnet foi realizado posteriormente ao ANOVA de duas vias para comparação dos dados obtidos nos diferentes momentos, entre e dentro de grupos, sendo que as diferenças entre os grupos foram avaliados em relação ao grupo PE e os dados obtidos dentro de cada grupo foram comparados com PE_{30}. Todos os resultados foram apresentados como média e seus respectivos erro padrão da média (média $\pm$ EPM). Foi considerado estatisticamente significativo o valor mínimo de probabilidade $<0,05$.

Resultados

5. RESULTADOS

As variáveis hemodinâmicas estão apresentadas na Figura 3. Apesar do grupo Sham não apresentar alterações ao longo do experimento, seus valores de PMAP e IRVP foram significativamente menores em comparação ao grupo PE no momento PE_{30}.

A administração de doxiciclina, por si só, induziu elevações significativas no IRVP e na PMAP em ambos os grupos pré-tratados (Dox +PE e Dox+PE+Adm) quando comparado ao mesmo momento do grupo PE, sendo estes parâmetros registrados no momento $Dox_{30,}$ quando o grupo PE ainda não tinha sido embolizado.

Os valores do IRVP e da PMAP obtidos no momento BL nos grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm foram significativamente menores do que os valores registrados 30 min após EPA (PE_{30}). Já os valores registados nos momentos Dox_{15} e Dox_{30} em ambos os grupos não diferiram do PE_{30}, com exceção do período de tempo Dox_{30} no grupo Dox+PE+Adm, quando a PMAP neste momento foi 25% menor que o valor registado no momento PE_{30}.

Embora no grupo Dox+PE+Adm o tratamento com adrenomedulina não tenha modificado o IRVP em relação ao momento PE_{30}, no grupo PE+Adm sua administração diminuiu significativamente esta variável, além de aumentar significativamente o IC quando comparado ao mesmo momento. Embora a adrenomedulina tenha diminuído o IRVP ela não alterou os valores de PMAP em ambos os grupos (PE+Adm e Dox+PE+Adm) em relação ao momento PE_{30}.

Na comparação entre grupos, não houve diferença no IRVP, PMAP e nos valores de IC registrados após o tratamento com adrenomedulina (PE+Adm e Dox+PE+Adm) em relação aos valores registados em controles embolizados (grupo PE).

O pré-tratamento com doxiciclina não alterou o IRVS e a PAM. Já a administração da adrenomedulina nos grupos Dox+PE+Adm e PE+Adm induziu reduções significativas no IRVS em relação ao momento PE_{30} desde o momento Adm_{15} até o final do estudo (PT_{30}). Esta resposta foi acompanhada por diminuição significativa na PAM em ambos os grupos, com exceção dos momentos Adm_{15} e PT_{15} no grupo Dox+PE+Adm. Os valores do IRVS recordados após a administração adrenomedulina nos grupos Dox+PE+Adm e PE+Adm foram significativamente menores do que os valores registrados no grupo PE (com exceção do momento PT_{15} no grupo Dox + PE + Adm). O valor médio de pressão arterial no grupo PE+Adm foi significativamente menor que o grupo PE apenas no momento Adm_{30}.

Os parâmetros respiratórios estão apresentados na tabela 1. Os valores de $PaCO_2$ mantiveram-se dentro do limite fisiológico (35 a 45 mmHg). Reduções pequenas, porém significativas na $PaCO_2$ foram registados em alguns intervalos de tempo, em comparação com o PE_{30} nos grupo Dox+PE (Dox_{30} e Adm_{30}) e Dox+PE+Adm (BL).

A PaO2 registrada 30 min (Dox_{30}) após a injeção de doxiciclina nos grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm foi significativamente menor em comparação com o mesmo período registrado no grupo PE. No grupo

Dox+PE, a PaO_2 foi significativamente maior no momento BL e no Dox_{30} em comparação ao PE_{30}, enquanto que no grupo Dox+PE+Adm, os valores dessa variável foram apenas maiores no momento BL. Após a embolização, não foram observadas diferenças significativas na PaO_2 entre o grupo PE e os demais grupos embolizados.

A frequência cardíaca não apresentou alterações entre os momentos e não diferiu entre os cinco grupos experimentais ao longo do período de observação.

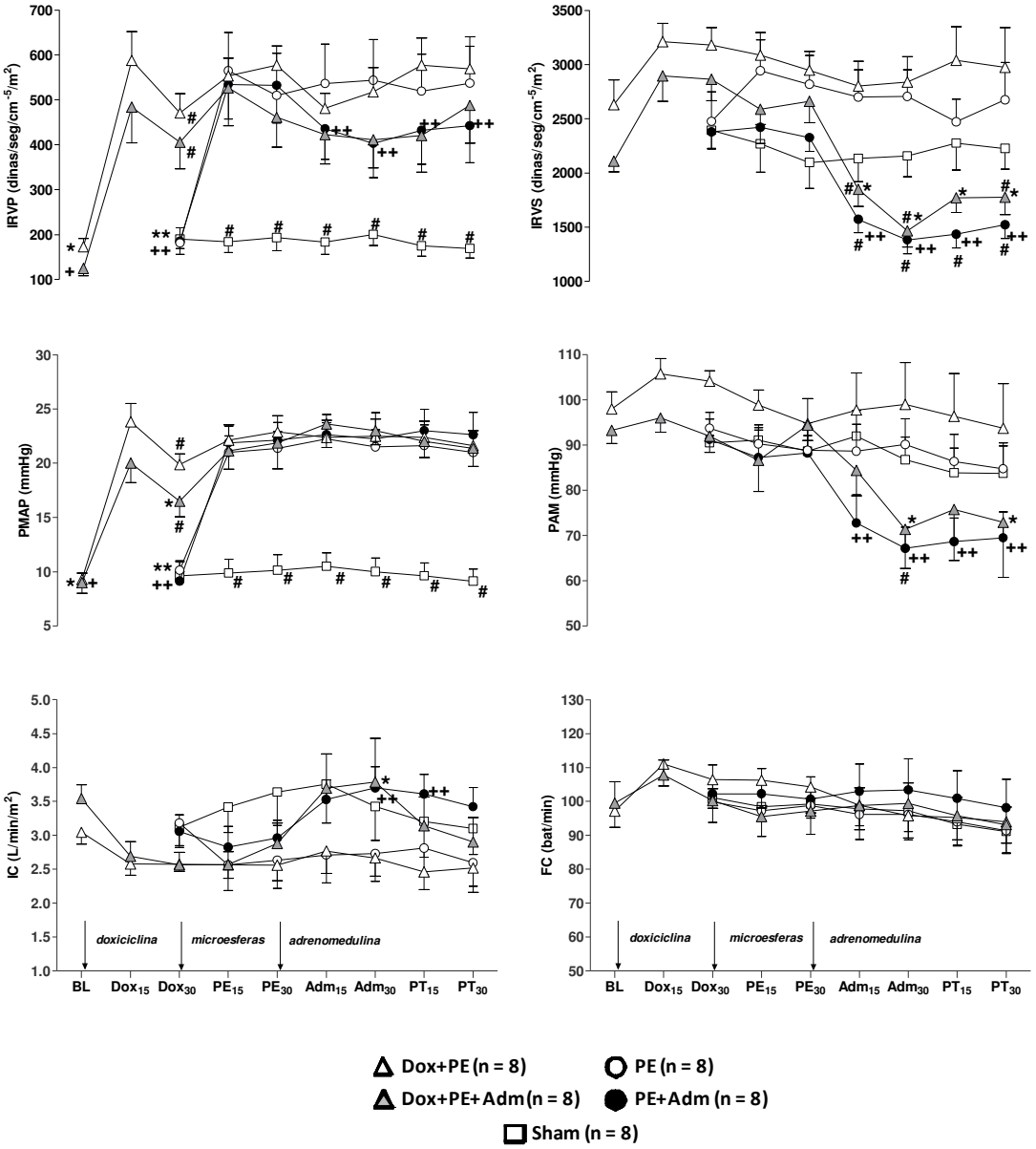

Figura 3 Variáveis hemodinâmicas (média ± SEM) observadas em ovinos anestesiados, pré-tratados com doxiciclina (10 mg/kg) submetidos a embolia pulmonar induzida por microesferas e tratados com solução salina fisiológica (Dox+PE, n=8) ou adrenomedulina (50 ng/kg/min) (Dox+PE+Adm, n=8). Os dados foram registrados ao término do preparo dos animais (BL); Após 15 min (Dox 15) e 30 min (Dox_{30}) da administração da doxiciclina; após 15 min (PE_{15}) e 30 min (PE_{30}) de embolia pulmonar; após 15 min (Adm_{15}) e 30 min (Adm_{30}) da adrenomedulina ou infusão de solução salina, e 15 min (PT_{15}) e 30 min (PT_{30}) após o fim da infusão de solução salina ou de adrenomedulina. Dados anteriores publicados foram apresentados para comparação (Lagos-Carvajal et al, 2015). Neste estudo foram utilizados ovinos anestesiados não submetidos a nenhuma intervenção (Sham); e ovinos submetidos a embolia pulmonar, induzida por microesferas, e tratados com solução salina fisiológica (PE) ou adrenomedulina (50 ng/kg/min) (PE+Adm).

IRVP = Índice de resistência vascular pulmonar; IRVS = índice de resistência vascular sistêmica; PMAP = pressão média da artéria pulmonar; PAM = pressão arterial média; IC = índice cardíaco; FC = frequência cardíaca.

+ Diferença significativa (P <0,05) do PE30 (Dox grupo + PE) * Diferença significativa do PE30 (PE grupo + Dox + Adm); ** Diferença significativa do PE30 (Grupo PE); ++ Diferença significativa do PE30 (PE + Adm Group); # Diferença significativa do grupo PE.

Tabela 1. Variáveis respiratórias (média ± SEM) observadas em ovinos anestesiados, pré-tratados com doxiciclina (10 mg/kg) submetidos a embolia pulmonar induzida por microesferas e tratados com solução salina fisiológica (Dox+PE, n=8) ou adrenomedulina (50 ng/kg/min) (Dox+PE+Adm, n=8). Os dados foram registrados ao término do preparo dos animais (BL); Após 15 min (Dox $_{15)}$ e 30 min (Dox_{30}) da administração da doxiciclina; após 15 min (PE_{15}) e 30 min (PE_{30}) de embolia pulmonar; após 15 min (Adm_{15}) e 30 min (Adm_{30}) da adrenomedulina ou infusão de solução salina, e 15 min (PT_{15}) e 30 min (PT_{30}) após o fim da infusão de solução salina ou de adrenomedulina. Dados anteriores publicados foram apresentados para comparação (Lagos-Carvajal et al, 2015). Neste estudo foram utilizados ovinos anestesiados não submetidos a nenhuma intervenção (Sham); e ovinos submetidos a embolia pulmonar, induzida por microesferas, e tratados com solução salina fisiológica (PE) ou adrenomedulina (50 ng/kg/min) (PE+Adm).

Parâmetros	**Grupos**	**Momentos**				
		BL	**Dox_{30}**	**PE_{30}**	**Adm_{30}**	**PT_{30}**
$PaCO_2$ (mmHg)	Dox+PE	41 ± 1	38 ± 1^{+}	44 ± 1	40 ± 1^{+}	42 ± 1
	Dox+PE+Adm	40 ± 1*	42 ± 1	44 ± 1	43 ± 1	43 ± 1
	PE	-	42 ± 1	43 ± 2	43 ± 2	41 ± 2
	PE+Adm	-	42 ± 1	41 ± 2	39 ± 2	41 ± 2
	Sham	-	43 ± 1	42 ± 1	41 ± 1	40 ± 1
PaO_2 (mmHg)	Dox+PE	423 ± 26^{+}	234 ± 66$^{+\#}$	92 ± 11	117 ± 27	109 ± 26
	Dox+PE+Adm	428 ± 15*	149 ± 35$^{\#}$	97 ± 22	140 ± 38	133 ± 34
	PE	-	390 ± 38**	171 ± 33	185 ± 33	165 ± 23
	PE+Adm	-	411 ± 30^{++}	262 ± 49	270 ± 49	253 ± 45
	Sham	-	446 ± 24	434 ± 31$^{\#}$	449 ± 19$^{\#}$	441 ± 16$^{\#}$

+ Diferença significativa do PE30 (Dox grupo + PE);
* Diferença significativa do PE30 (PE grupo + Dox + Adm);
** Diferença significativa do PE30 (Grupo PE);
++ Diferença significativa do PE30 (PE + Adm Group);
# Diferença significativa do grupo PE;

Discussão

6. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a administração combinada da doxiciclina e da adrenomedulina não traz benefícios hemodinâmicos adicionais quando comparada ao uso isolado da adrenomedulina, sugerindo que está combinação não se apresenta vantajosa no cenário de EPA induzida por microesferas. Embora a adrenomedulina, por si só, tenha reduzido o IRVP e aumentado o IC, no mesmo modelo experimental, (LAGOS-CARVAJAL et al., 2015) a potencialização da sua ação vasodilatadora pulmonar seria desejável, pois poderia contribuir de maneira mais eficaz na atenuação da hipertensão pulmonar durante a EPA.

É importante ressaltar que o comprometimento do débito cardíaco, resultante do aumento da pós-carga do ventrículo direito imposta pela circulação pulmonar hipertensa, é o principal responsável pela alta incidência de morte após EPA (SANCHES et al., 2008). A esse respeito, os aumentos significativos no índice cardíaco induzido pela adrenomedulina representa uma ação vantajosa desse fármaco em relação a outros já testados na EPA, que apesar de terem sido capazes de atenuar a hipertensão pulmonar, em até 25%, não melhoraram o índice cardíaco (NETO-NEVES et al. 2011 b; DIAS-JUNIOR et al., 2010).

Apesar dos níveis de AMPc não terem sido avaliados no presente estudo, é provável que a resposta vasodilatadora e inotrópica positiva promovida pela adrenomedulina tenha sido mediada por este

segundo mensageiro (SZOKODI et al., 1998; ERTMER et al., 2007; NAGAYA et al., 2000; LAGOS-CARJAVAL et al., 2015).

No presente estudo, o pré-tratamento com doxiciclina não foi associado a redução da hipertensão pulmonar durante a EPA. Embora o objetivo não tenha sido avaliar os efeitos da doxiciclina muitas horas após a EPA, a administração prévia da doxicicllina não produziu alterações após a indução da EPA (grupo Dox+PE), conforme relatado anteriormente (NETO-NEVES et al., 2011; NETO-NEVES et al., 2013). Essa ausência de atenuação da hipertensão pulmonar com a doxiciclina pode estar relacionada ao tempo do protocolo experimental utilizado neste estudo (90 min de acompanhamento após a indução da EPA), ou seja, o período de avaliação pode não ter sido suficiente para observar tal efeito. Essa hipótese é apoiada por relatos anteriores onde os efeitos hemodinâmicos benéficos da inibição das MMPs com doxiciclina foram observados apenas 2 horas após a indução da EPA (NETO-NEVES et al., 2011; NETO-NEVES et al., 2013). Além disso, uma resposta inflamatória com influxo precoce de neutrófilos e macrófagos dentro da parede da artéria pulmonar mostrou-se apenas 3 horas após a embolia pulmonar em ratos (EAGLETON et al., 2002). Dessa forma, é possível que a latência necessária para que essas células inflamatórias liberem grânulos contendo grande quantidades de MMPs (especialmente a MMP-9) seja de pelo menos 2 ou 3 horas depois da instalação da EPA. Estas sugestões podem explicar os efeitos benéficos da inibição da MMPs com doxiciclina

já encontrados em estudos anteriores (FORTUNA et al., 2007; NETO-NEVES et al., 2011; NETO-NEVES et al., 2013), mas não aqui. Esses resultados sugerem que a combinação da doxiciclina com adrenomedulina não conseguiu produzir efeitos sinérgicos, ao menos logo nas primeiras horas (*"Golden hour"*), não sendo, portanto, uma abordagem terapêutica apropriada para o tratamento da hipertensão pulmonar induzida por EPA.

Os incrementos significativos nos valores do índice de resistência vascular pulmonar e da pressão da artéria pulmonar observados logo após a administração da doxiciclina (momentos Dox_{15} e Dox_{30}) podem não estar relacionados diretamente a doxiciclina mas sim ao veículo no qual este fármaco foi diluído (propileno glicol), já que a mesma dose utilizada no presente estudo, porém sem o propileno glicol, não produziu efeitos cardiovasculares deletérios quando administrada por via intravenosa em animais não embolizados (FORTUNA et al., 2007; NETO-NEVES et al., 2011; NETO-NEVES et al., 2013). Esses achados aparentemente conflitantes, podem ser explicados por estudos prévios que demonstraram que o uso do propileno glicol em ovinos causa hipertensão pulmonar (QUINN et al., 1990). Vale ressaltar ainda que os animais tratados, aqui, com doxiciclina também apresentaram redução na oxigenação pulmonar, que não foi relatada em outros estudos (FORTUNA et al., 2007; NETO-NEVES et al., 2011; NETO-NEVES et al., 2013). Dado ao fato de que esses animais estavam respirando uma fração inspirada de oxigênio >0.9, a diminuição da PaO_2 observada, neste estudo, poderia ser

atribuída a um aumento do *"shunt"* intrapulmonar (maior porcentagem de débito cardíaco em direção as áreas pulmonares não ventiladas). Além disso, a atelectasia desenvolvida em ovinos durante a anestesia pode contribuir para o aumento do *"shunt"* intrapulmonar e, consequentemente, para a hipoxigenação (HEDENSTIERNA et al., 1989). Portanto, as diminuições na PaO_2 registradas após a doxiciclina podem ser atribuídas a vasoconstrição pulmonar induzida pelo veículo (propileno glicol) que levam ao desvio de uma fração do fluxo sanguíneo para áreas atelectásicas do pulmão, aumentando, assim o *"shunt"* intrapulmonar (QUINN et al., 1990; PEARL et al., 1990).

Devido a pouca informação existente na literatura sobre os efeitos hemodinâmicos da infusão intravenosa da doxiciclina (RIOND et al., 1992; FORTUNA et al., 2007; NETO-NEVES et al., 2011; NETO-NEVES et al., 2013; FERRAZ et al., 2013), é importante considerar a substituição do veículo utilizado na diluição da doxiciclina (QUINN et al., 1990; RIOND et al., 1992). Além disso, outras vias de administração, como por exemplo, a via oral (TYNAN et al., 2015), podem ser utilizadas a fim de se evitar tais efeitos desvantajosos.

Embora os mecanismos que conduzem a estes resultados contraditórios com doxiciclina (um inibidor não seletivo das MMPs) não estejam totalmente claros, os possíveis efeitos terapêuticos dos inibidores de MMPs na EPA (NETO-NEVES et al., 2013) devem ser melhores examinados, considerando o importante papel desempenhado pelas

MMPs horas após o início da EPA.

O presente estudo apresenta algumas limitações que devem ser levadas em consideração. Por exemplo, os pacientes com EPA, na maioria dos casos, somente são tratados após varias horas do início dos sintomas, o que torna impossível a administração prévia da doxiciclina. Além disso, embora a adrenomedulina produza efeitos hemodinâmicos benéficos após EPA (claramente observado pela diminuição da resistência vascular pulmonar e aumento do índice cardíaco), os ovinos utilizados neste estudo (grupo PE) não apresentavam instabilidade hemodinâmica, dessa forma, o efeito vasodilatador sistêmico moderado da adrenomedulina poderia ser um motivo de preocupação em pacientes com embolia pulmonar maciça, já que a hipotensão observada nessas circunstâncias pode ser agravada por esse peptídeo vasodilatador. Portanto, a adrenomedulina deve ser cuidadosamente utilizada em pacientes hemodinamicamente instáveis e o uso concomitante de drogas vasopressoras deve ser considerado, uma vez que a ação vasodilatadora sistêmica induzida pela adrenomedulina poderia agravar quadros hipotensivos pré-existentes.

Conclusão

Conclusão

Nossos resultados permitem concluir que a administração intravenosa de doxiclina não atenua a hipertensão arterial pulmonar, assim como não potencializa os efeitos hemodinâmicos benéficos da adrenomedulina, ao menos nas primeiras horas, durante a EPA induzida por microesferas. Por conseguinte, a administração combinada de doxiciclina e adrenomedulina não se apresenta vantajosa quando comparada ao uso isolado da adrenomedulina, no distúrbio hemodinâmico instalado após EPA.

Referências

Referências

1. Barnes PJ, Liu SF. Regulation of pulmonary vascular tone. Pharmacol Rev. 1995; 47: 87-131.
2. Birkedal-Hansen, H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. Curr Opin Cell Biol. 1995; 7: 728-35.
3. Cau SB, Barato RC, Celes MR, Muniz JJ, Rossi MA, Tanus-Santos JE. Doxycycline prevents acute pulmonary embolism-induced mortality and right ventricular deformation in rats. Cardiovasc Drugs Ther. 2013; 27:259-67.
4. Dantzker DR, Wagner PD, et al. Gas exchange after pulmonary thromboemoblization in dogs. Circ Res. 1978; 42: 92-103.
5. Den EPL, Van DHT, Klok FA, Huisman MV. Advances in the diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Thrombosis Research. 2014; 133: S10–S16.
6. Dias-Junior CA, Neto-Neves EM, Montenegro MF, Tanus-Santos JE. Hemodynamic effects of inducible nitric oxide synthase inhibition combined with sildenafil during acute pulmonary embolism. Nitric Oxide. 2010; 23:284-8.
7. Dollery CM, McEwan JR et al. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. Circ Res. 1995; 77: 863-8.
8. Eagleton MJ, Henke PK, Luke CE, et al. Inflammation and intimal hyperplasia associated with experimental pulmonary embolism. J Vasc Surg. 2002; 36:581-588.
9. Elliot CG. Pulmonary physiology during pulmonary embolism. Chest. 1992; 101: 163S-171S.
10. Ertmer C, Morelli A, Rehberg S, Lange M, Hucklenbruch C, Van Aken H, Booke M, Westphal, M. Exogenous adrenomedullin prevents and reverses hypodynamic circulation and pulmonary

hypertension in ovine endotoxaemia. Br J Anaesth. 2007; 99:830–6.

11. Fatar M, Stroick, M et al. Matrix metalloproteinases in cerebrovascular diseases. Cerebrovasc Dis. 2005; 20: 141-51.

12. Fernandez-Patron C, Radomski, MW et al. Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. Circ Res. 1999; 85: 906-11.

13. Ferraz KC, Sousa-Santos O, Neto-Neves EM, Rizzi E, Muniz JJ, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Recombinant human matrix metalloproteinase-2 impairs cardiovascular β-adrenergic responses. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2013; 112: 103-9.

14. Fortuna GM, Figueiredo-Lopes L, Dias-Junior CA, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. A role for matrix metalloproteinase-9 in the hemodynamic changes following acute pulmonary embolism. Int J Cardiol. 2007; 114: 22–27.

15. Geurts N, Opdenakker G, Van den Steen PE. Matrix Metalloproteinases as therapeutic targets in protozoan parasitic infections. Pharmacology & Therapeutics. 2011; 133: 257-279.

16. Goldhaber SZ, Elliot CG. Acute pulmonary embolism: Part I Epidemiology, Pathophysioloy, and Diagnosis. Circulation. 2003; 108: 2726-9.

17. Golub LM, Lee HM et al. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. Adv Dent Res. 1998; 12: 12-26.

18. Hayakawa H, Hirata Y, Kakoki M, Suzuki Y, Nishimatsu H, Nagata D, Suzuki E, Kikuchi K, Nagano T, Kangawa K, Matsuo H, Sugimoto T, Omata M. Role of nitric oxide-cGMP pathway in adrenomedullin-induced vasodilation in the rat, Hypertension. 1999; 33: 689-93.

19. Hedenstierna G, Lundquist H, Lundh B, Tokics L, Strandberg A, Brismar B, Frostell C. Pulmonary densities during anaesthesia. An

experimental study on lung morphology and gas exchange. Eur Respir J. 1989; 2: 528-35.

20. Hinson JP, Kapas S, Smith DM. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide, Endocr Rev. 2002; 21: 138-67.

21. Jardin F, Dubourg O et al. Quantitative two-dimensional echocardiography in massive pulmonary embolism: emphasis on ventricular interdependence and leftward septal displacement. J Am Coll Cardiol. 1987; 10: 1201-6.

22. Kapas S, Catt KJ, Clark AJ. Cloning and expression of cDNA encoding a rat adrenomedullin receptor, J Biol Chem. 1995; 270: 2534-7.

23. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma, Biochem Biophys Res Commun. 1993; 192: 553-60.

24. Kupai K, Szucs G, Cseh S, Hajdu I, Csonka C, Csont T, Ferdinandy P. Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zymography. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2010; 61: 205-209.

25. Lagos-Carvajal AP, Teixeira-Neto FJ, Becerra-Velásquez DR, Diniz MS, Klein AV, Rocha TL, Dias-Junior CA. Adrenomedullin induces pulmonar vasodilation but does not attenuate pulmonary hypertension in a sheep modelo of acute pulmonary embolism. Life Sci. 2015; 139: 139-144.

26. Li YY, McTiernan CF, Feldman, AM. Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. Cardiovascular Research. 2000; 46: 214–224.

27. Lippton H, Chang JK, Hao Q, Summer W, Hyman AL. Adrenomedullin dilates the pulmonary vascular bed in vivo. J Appl Physiol 1985; 76: 2154-6.

28. Lualdi JC, Goldhaber SZ. Right ventricular dysfunction after acute pulmonary embolism: pathophysiologic factors, detection, and therapeutic implications. Am Heart J. 1995; 130: 1276-82.

29. Lumb AB. Nunn's Applied Respiratory Physiology. 6th ed. The Pulmonary Circularion and Distribution of pulmonary ventilation and perfusion. Philadelphia: Elsevier/ Butterworth Heinemann: 2005; p. 138-197.

30. Martínez A, Oh HR, Unsworth EJ, Bregonzio C, Saavedra JM, Stetler-Stevenson WG, Cuttitta F. Matrix metalloproteinase-2 cleavage of adrenomedullin produces a vasoconstrictor out of a vasodilator. Biochem J. 2004; 383:413-8.

31. Mebazaa A, Karpati P et al. Acute right ventricular failure--from pathophysiology to new treatments. Intensive Care Med. 2004; 30: 185-96.

32. Mühl D, Ghosh S, Uzuelli JA, Lantos J, Tanus-Santos JE. Increases in circulating matrix metalloproteinase-9 levels following fibrinolysis for acute pulmonary embolism. Thromb Res. 2010; 125: 549-53.

33. Nagaya N, Miyatake K, Kyotani S, Nishikimi T, Nakanishi N, Kangawa K. Pulmonary vasodilator response to adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension. Hypertens. Res. 2003; Suppl:S141-6

34. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Oya H, Kyotani S, Sakamaki F, Ueno K., Nakanishi N, Miyatake K., Kangawa K.. Haemodynamic and hormonal effects of adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension. Heart. 2000; 84: 653-658.

35. Nascimento RA, Mendes G, Possomato-Vieira JS, Gonçalves-Rizzi VH, Kushima H, Delella FK, Dias-Junior CA.. Metalloproteinase Inhibition Protects against Reductions in Circulating Adrenomedullin during Lead-induced Acute Hypertension. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2014; 116: 508-15.

36. Neto-Neves EM, Dias-Junior CA, Rizzi E, Castro MM, Sonego F, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Metalloproteinase inhibition protects against cardiomyocyte injury during experimental acute pulmonar thromboembolism. Cri Care Med. 2011a; 39: 349–356.

37. Neto-Neves EM, Dias-Junior CA, Uzuelli JA, Pereira RP, Spiller F, Czaikoski PG, Tanus-Santos JE. Sildenafil improves the beneficial hemodynamic effects exerted by atorvastatin during acute pulmonary thromboembolism. Eur J Pharmacol. 2011b; 670:554-60.

38. Neto-Neves EM, Kiss T, Muhl D, Tanus-Santos JE. Matrix metalloproteinases as drug targets in acute pulmonary embolism. Curr Drug Targets. 2013a; 14: 344–352.

39. Neto-Neves EM, Sousa-Santos O, Ferraz KC, Rizzi E, Ceron CS, Romano NM, Gali LG, Maciel BC, Shulz R, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates right ventricular dysfunction and improves responses to dobutamine during acute pulmonary thromboembolism. J Cell Mol Med 2013b; 17: 1588–1597.

40. Nishikimi T, Horio T, Yoshihara F, Nagaya N, Matsuo H, Kangawa K. Effect of adrenomedullin on cAMP and cGMP levels in rat cardiac myocytes and nonmyocytes. Eur J Pharmacol. 1998; 353: 337–344.

41. Owji AA, Smith DM, Coppock HA, Morgan DG, Ghatei MA, Blomm SR. An abundant and specific binding site for the novel vasodilator adrenomedullin in the rat. Endocrinology. 1995; 136: 127-34.

42. Palei AC, Zaneti RA et al. Hemodynamic benefits of matrix metalloproteinase-9 inhibition by doxycycline during experimental acute pulmonary embolism. Angiology. 2005; 56: 611-7.

43. Parks WC, Wilson CL, Lopez-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. Nat. Rev. Immunol. 2004; 4: 617-629.

44. Pearl RG, Finn JC. Hemodynamic effects of Diltiazem during vasoconstrictor pulmonary hypertension in sheep. Anesth Analg 1990; 71: 493-7

45. Penaloza A, Roy PM, Kline J. Risk stratification and treatment strategy of pulmonary embolism. Curr Opin Crit Care. 2012; 18: 318–325.

46. Piazza G, Goldhaber SZ. Fibrinolysis for acute pulmonary embolism. Vasc Med. 2010; 15: 419-28.

47. Quinn DA, Robinson D, Hales CA. Intravenous injection of propylene glycol causes pulmonary hypertension in sheep. J Appl Physiol. 1990; 68: 1415-20.

48. Reeves WC, Demers LM et al. The release of thromboxane A2 and prostacyclin following experimental acute pulmonary embolism. Prostaglandins Leukot Med. 1983; 11: 1-10.

49. Richard D. Troughton RD, John G. Lainchbury JG, McGregor DO, Richards AM, Nicholls MG. Adrenomedullin in hypertension. Current Hypertension Reports. 2000; 2: 1-2.

50. Riedel M. Acute pulmonary embolism: pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis. Heart. 2001; 85: 229-40.

51. Riond JL, Riviere JE, Duckett WM, Atkins CE, Jernigan AD, Rikihisa Y, Spurlock SL. Cardiovascular effects and fatalities associated with intravenous administration of doxycycline to horses and ponies. Equine Vet J. 1992; 24: 41-5.

52. Sadosty AT, Boie ET et al. Pulmonary embolism. Emerg Med Clin North Am. 2003; 21: 363-84.

53. Sanchez O, Trinquart L, Colombet I, Durieux P, Huisman MV, Chatellier G, Meyer G. Prognostic value of right ventricular dysfunction in patients with haemodynamically stable pulmonary embolism: a systematic review. Eur Heart J. 2008; 29: 1569–1577.

54. Schulz R. Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2007; 47: 211-42.

55. Smulders YM. Contribution of pulmonary vasoconstriction to haemodynamic instability after acute pulmonary embolism. Implications for treatment? Neth J Med. 2001; 58: 241-7.

56. Smulders YM. Pathophysiology and treatment of hemodynamic instability in acute pulmonary embolism: the pivotal role of pulmonary vasoconstriction. Cardiovasc Res. 2000; 48: 23-33.

57. Sommer N, Dietrich A, Schermuly RT, Ghofrani HA, Gudermann T, Schulz R, Seeger W, Grimminger F, Weissmann N. Regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction: basic mechanism. Eur Respir J. 2008; 32: 1639-51.

58. Souza-Costa DC, Zerbini T et al. L-arginine attenuates acute pulmonary embolism-induced increases in lung matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9. Chest. 2005; 128: 3705-3710.

59. Spinale FG. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. Circ Res. 2002; 90: 520-30.

60. Spinale FG, Coker ML et al. Myocardial matrix degradation and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target. Cardiovasc Res. 2000; 46: 225-38.

61. Stratmann G, Gregor GA. Neurogenic and humoral vasoconstriction in acute pulmonary thromboembolism. Anesth Analg. 2003; 97: 341–354.

62. Szokodi I, Kinnunen P, Tavi P, Weckstrom M, Toth M, Ruskoaho H. Evidence for cAMP-independent mechanisms mediating the effects of adrenomedullin, a new inotropic peptide. Circulation. 1998; 97: 1062-70.

63. Thompson M, Cockerill G. Matrix metalloproteinase-2: the forgotten enzyme in aneurysm pathogenesis. Ann N Y Acad Sci. 2006; 1085: 170-4.

64. Tynan BE, Papich MG, Kerl ME, Cohn LA. Pharmacokinetics of minocycline in domestic cats. J Feline Med Surg. 2015; pii:1098612X15579114.

65. Utsonomiya T, Krausz MM et al. Thromboxane mediation of cardiopulmonary effects of embolism. J Clin Invest. 1982; 70: 361-8.

66. Vanhoutte D, Schellings M, Pinto Y, Heymans, S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: A temporal and spatial window. Cardiovascular Research. 2006; 69: 604-613.

67. Voelkel NF, Tuder RM. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: a model for what human disease? J Clin Invest. 2000; 106: 733-8.

68. West JB. Fisiologia Respiratória Moderna. San Diego, Editora Manole LTDA; 1977.

69. Westphal M, Booke M, Dinh-Xuan AT. Adrenomedullin: a smart road from pheochromocytoma to treatment of pulmonary hypertension. Eur. Respir J. 2004; 24: 518–520.

70. Wood KE. Major pulmonary embolism. Crit Care Clin. 2011; 27: 885–906.

APÊNDICE

Apêndice A- Valores individuais da frequência cardíaca (FC) (bpm) registrada em ovinos do grupo Dox+PE e Dox+PE+Adm e nos grupos históricos Sham, PE, PE+Adm.

FC Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	99	113	133	122	118	113	109	109	113
Animal 2	97	96	89	96	75	71	71	72	74
Animal 3	85	99	92	85	89	89	86	82	80
Animal 4	79	83	69	90	98	93	89	90	89
Animal 5	101	96	95	89	89	73	73	73	71
Animal 6	120	122	115	98	101	112	109	103	101
Animal 7	88	139	122	130	140	125	120	120	115
Animal 8	110	127	136	140	124	115	109	113	109

FC Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	89	130	118	100	93	86	80	77	73
Animal 2	95	100	95	95	86	83	77	75	74
Animal 3	76	100	92	95	92	109	114	105	100
Animal 4	136	122	107	101	107	114	125	117	113
Animal 5	103	109	96	85	95	89	93	91	92
Animal 6	107	92	89	85	85	85	90	89	86
Animal 7	103	101	96	98	103	103	113	111	107
Animal 8	87	108	109	105	116	121	103	101	100

FC Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	120	122	122	121	117	115	109
Animal 2	94	95	95	85	76	75	75
Animal 3	90	89	88	84	83	78	75
Animal 4	102	87	88	86	93	86	87
Animal 5	101	103	111	115	128	124	125
Animal 6	100	95	97	100	94	88	79
Animal 7	103	103	100	99	99	95	95
Animal 8	99	93	93	92	88	85	84

FC Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	85	87	89	83	82	81	80
Animal 2	112	103	101	101	103	101	100
Animal 3	76	83	88	91	89	85	76
Animal 4	103	105	117	117	117	119	113
Animal 5	110	120	117	116	122	115	115
Animal 6	126	130	136	120	113	111	105
Animal 7	82	65	62	63	62	65	67
Animal 8	105	85	80	78	81	75	75

FC Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	132	120	117	122	125	125	125
Animal 2	96	98	100	113	117	115	113
Animal 3	130	134	125	136	146	130	125
Animal 4	126	117	117	120	113	113	113
Animal 5	80	83	81	84	90	96	92
Animal 6	70	77	75	72	70	74	73
Animal 7	88	81	84	85	84	82	78
Animal 8	96	108	106	92	82	72	66

Apêndice B- Valores individuais da área da superfície corporal (ASC) calculada em ovinos do grupo Dox+PE e Dox+PE+Adm e dos grupos históricos Sham, PE, PE+Adm,. A superfície corpórea para carneiros foi calculada com base na seguinte fórmula: Superfície Corpórea (m2) = peso 0,67 x 0,09. (74)

ASC Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Animal 2	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97
Animal 3	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
Animal 4	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Animal 5	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97
Animal 6	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Animal 7	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Animal 8	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92

ASC Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Animal 2	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Animal 3	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Animal 4	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97
Animal 5	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Animal 6	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92
Animal 7	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Animal 8	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88

ASC Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Animal 2	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Animal 3	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Animal 4	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Animal 5	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Animal 6	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Animal 7	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
Animal 8	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96

ASC Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Animal 2	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Animal 3	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Animal 4	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Animal 5	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Animal 6	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Animal 7	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Animal 8	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88

ASC Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Animal 2	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Animal 3	0,63	0,63	0,63	0,63	0,63	0,63	0,63
Animal 4	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Animal 5	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Animal 6	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Animal 7	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Animal 8	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90

Apêndice C- Valores individuais da média de três mensurações do débito cardíaco (DC) (L/min) através da técnica da termodiluição pulmonar registradas em ovinos anestesiados dos grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm e dos grupos históricos Sham, PE, PE+Adm.

DC Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2,81	2,36	3,64	2,01	1,99	2,32	2,30	2,40	2,36
Animal 2	2,49	2,28	2,66	1,72	1,51	1,44	1,48	1,50	1,47
Animal 3	3,08	2,25	2,34	2,41	2,64	2,68	2,53	2,03	1,94
Animal 4	2,66	2,19	1,99	2,69	2,55	2,24	2,10	1,90	1,86
Animal 5	3,12	2,69	2,86	1,98	1,63	1,64	1,90	1,69	1,63
Animal 6	1,96	1,81	1,97	1,89	2,48	3,72	2,61	2,32	2,02
Animal 7	2,96	1,99	2,32	2,91	3,00	3,00	2,87	2,51	2,74
Animal 8	3,44	3,27	2,54	3,15	2,84	2,99	3,57	3,54	4,31

DC Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	3,33	3,52	3,54	2,46	2,19	2,66	1,89	2,01	2,02
Animal 2	3,35	2,55	2,47	2,59	2,02	2,36	2,24	1,32	1,22
Animal 3	2,91	2,79	2,63	2,85	2,67	4,60	4,48	3,51	3,65
Animal 4	3,81	2,83	2,33	2,90	4,03	5,02	5,53	4,45	3,80
Animal 5	2,74	2,64	2,28	1,61	1,93	1,87	2,24	2,10	2,07
Animal 6	2,48	1,47	1,61	2,02	2,20	2,34	2,76	3,26	3,16
Animal 7	3,86	2,42	2,18	2,87	2,61	4,85	6,11	3,98	3,16
Animal 8	3,80	1,82	2,08	1,82	3,64	3,59	2,65	2,53	2,30

DC Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	1,49	2,09	2,28	2,64	2,24	2,04	1,81
Animal 2	3,46	3,21	2,88	2,57	2,10	2,10	2,17
Animal 3	2,01	2,25	2,66	2,23	2,43	1,93	2,26
Animal 4	2,04	2,23	2,33	2,10	1,98	2,13	2,03
Animal 5	3,14	4,53	5,60	5,86	5,45	5,50	4,23
Animal 6	2,81	2,83	2,86	3,21	2,90	2,52	2,02
Animal 7	3,68	3,38	3,17	3,60	2,89	2,90	3,79
Animal 8	2,24	1,94	2,02	2,17	2,35	1,84	2,11

DC Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	3,08	2,45	2,10	2,09	2,17	2,31	2,44
Animal 2	3,46	1,73	1,81	1,68	1,78	1,91	1,92
Animal 3	2,82	2,08	2,53	2,70	2,41	2,64	1,75
Animal 4	3,60	3,71	3,97	4,23	4,25	4,25	3,95
Animal 5	3,92	3,64	3,83	3,71	3,76	3,69	3,28
Animal 6	2,69	2,13	2,08	2,08	2,22	2,46	2,05
Animal 7	1,85	1,32	1,33	1,45	1,53	1,53	1,66
Animal 8	1,90	1,77	1,70	1,99	1,96	1,91	1,98

DC Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2,40	1,18	1,59	1,86	2,09	2,03	1,91
Animal 2	2,44	2,40	2,58	3,34	3,81	3,61	3,46
Animal 3	2,95	2,71	2,47	3,08	3,26	2,88	2,66
Animal 4	2,25	2,18	2,87	2,84	2,79	2,88	2,77
Animal 5	2,19	1,75	1,89	2,76	3,38	3,25	3,26
Animal 6	2,09	2,05	2,00	2,26	2,42	2,68	2,47
Animal 7	2,43	2,44	2,30	3,08	2,97	3,34	3,18
Animal 8	2,51	3,15	3,03	3,12	2,70	2,22	2,00

Apêndice D- Valores individuais do IC calculado a partir do DC e área de superfície corpórea em ovinos anestesiados dos grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm e dos grupos históricos Sham, PE, PE+Adm.

IC Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	3,04	2,58	2,57	2,36	2,34	2,73	2,71	2,83	2,77
Animal 2	2,57	2,58	2,74	1,78	1,55	1,48	1,53	1,54	1,51
Animal 3	3,58	2,62	2,72	2,80	3,07	3,12	2,94	2,36	2,26
Animal 4	2,71	2,23	2,03	2,74	2,60	2,29	2,14	1,94	1,90
Animal 5	3,22	2,77	2,95	2,04	1,68	1,69	1,96	1,74	1,68
Animal 6	2,31	2,13	2,32	2,22	2,92	4,38	3,07	2,73	2,38
Animal 7	3,17	2,13	2,48	3,12	3,21	3,22	3,07	2,69	2,94
Animal 8	3,75	3,57	2,77	3,44	3,10	3,26	3,90	3,86	4,70

IC Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	3,33	3,52	3,54	2,46	2,19	2,66	1,89	2,01	2,02
Animal 2	3,35	2,55	2,47	2,59	2,02	2,36	2,24	1,32	1,22
Animal 3	3,31	3,17	2,99	3,24	3,03	5,23	5,09	3,99	4,15
Animal 4	3,93	2,92	2,40	2,99	4,15	5,18	5,70	4,59	3,92
Animal 5	3,11	2,99	2,59	1,83	2,19	2,12	2,54	2,38	2,35
Animal 6	2,71	1,60	1,75	2,21	2,41	2,56	3,01	3,55	3,45
Animal 7	4,29	2,69	2,42	3,19	2,90	5,40	6,80	4,43	3,51
Animal 8	4,31	2,06	2,36	2,06	4,13	4,07	3,00	2,87	2,61

IC Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2,82	3,94	4,31	4,99	4,23	3,84	3,42
Animal 2	3,72	3,45	3,1	2,76	2,26	2,26	2,34
Animal 3	2,42	2,71	3,21	2,69	2,93	2,33	2,72
Animal 4	2,29	2,51	2,61	2,36	2,23	2,39	2,28
Animal 5	3,74	5,4	6,67	6,98	6,48	6,54	5,04
Animal 6	3,35	3,37	3,41	3,82	3,45	3,0	2,4
Animal 7	4,28	3,93	3,69	4,19	3,36	3,37	4,4
Animal 8	2,33	2,02	2,11	2,26	2,44	1,91	2,2

IC Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	3,14	2,5	2,14	2,14	2,21	2,35	2,49
Animal 2	4,22	2,11	2,2	2,05	2,17	2,33	2,35
Animal 3	2,69	1,98	2,41	2,57	2,3	2,52	1,67
Animal 4	3,83	3,95	4,22	4,5	4,52	4,52	4,2
Animal 5	4,78	4,44	4,67	4,53	4,58	4,5	4,0
Animal 6	2,57	2,03	1,98	1,98	2,11	2,35	1,95
Animal 7	1,94	1,39	1,4	1,53	1,61	1,61	1,75
Animal 8	2,16	2,01	1,93	2,26	2,22	2,17	2,25

IC Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2,96	1,46	1,97	2,3	2,58	2,51	2,36
Animal 2	3,01	2,96	3,18	4,12	4,7	4,46	4,27
Animal 3	4,68	4,29	3,92	4,88	5,18	4,57	4,23
Animal 4	3,04	2,94	3,88	3,84	3,77	3,89	3,74
Animal 5	2,46	1,97	2,12	3,1	3,79	3,65	3,66
Animal 6	2,55	2,49	2,44	2,76	2,96	3,26	3,02
Animal 7	2,97	2,97	2,8	3,75	3,62	4,08	3,88
Animal 8	2,79	3,5	3,37	3,47	3,0	2,47	2,22

Apêndice E- Valores individuais da pressão média da artéria pulmonar (PMAP) (mmHg) para cada tempo experimental (grupo Dox+PE e Dox+PE+Adm e grupos históricos Sham, PE, PE+Adm).

PMAP Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	9	24	20	16	15	15	15	15	15
Animal 2	11	24	22	19	22	20	20	20	20
Animal 3	8	23	22	22	26	24	22	22	21
Animal 4	12	27	22	27	26	23	24	22	22
Animal 5	9	20	18	26	24	23	24	24	23
Animal 6	10	29	21	26	28	31	31	30	29
Animal 7	7	15	14	22	23	22	22	22	21
Animal 8	8	29	20	19	19	21	22	24	22

PMAP Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	10	18	15	22	20	26	20	17	14
Animal 2	13	21	18	25	22	22	21	20	19
Animal 3	6	18	11	17	16	18	20	19	18
Animal 4	7	20	18	20	22	25	28	26	25
Animal 5	11	18	14	22	24	23	26	25	25
Animal 6	6	16	16	17	17	19	21	20	20
Animal 7	7	17	15	16	17	19	20	20	21
Animal 8	12	32	25	30	37	37	28	29	29

PMAP Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	11	10	11	12	11	12	9
Animal 2	13	13	12	10	8	8	7
Animal 3	11	12	14	13	14	12	13
Animal 4	5	5	5	5	5	5	5
Animal 5	6	6	6	8	7	8	8
Animal 6	15	15	16	16	15	14	13
Animal 7	10	11	11	12	12	12	12
Animal 8	6	7	6	8	8	6	6

PMAP Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	13	21	22	20	19	20	21
Animal 2	11	24	25	25	27	30	28
Animal 3	10	21	21	22	21	21	19
Animal 4	8	20	19	18	18	17	16
Animal 5	8	19	18	24	18	17	18
Animal 6	14	29	30	30	29	29	27
Animal 7	10	20	20	22	23	23	23
Animal 8	7	14	16	17	17	16	16

PMAP Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	14	23	29	28	31	32	33
Animal 2	8	26	28	32	33	29	29
Animal 3	8	28	22	24	24	26	24
Animal 4	10	20	22	22	14	22	21
Animal 5	11	20	19	20	21	22	22
Animal 6	8	18	19	18	18	18	18
Animal 7	8	15	15	16	16	16	16
Animal 8	6	25	23	21	21	19	18

Apêndice F- Valores individuais da pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP) (mmHg) registrados em ovinos anestesiados dos grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm e dos grupos históricos Sham, PE, PE+Adm.

POAP Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	3	5	1	-1	-1	0	0	1	0
Animal 2	3	5	4	7	9	11	5	4	4
Animal 3	3	6	7	5	5	4	5	7	6
Animal 4	6	8	9	6	6	7	7	8	9
Animal 5	2	6	7	8	7	9	10	10	9
Animal 6	3	3	3	7	8	9	10	9	9
Animal 7	1	4	5	5	4	5	6	5	6
Animal 8	3	5	3	2	3	6	8	9	8

POAP Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	5	6	5	5	8	10	9	12	7
Animal 2	6	4	4	5	6	6	7	7	6
Animal 3	3	3	0	3	2	3	3	4	5
Animal 4	3	7	8	10	14	10	12	12	12
Animal 5	3	5	4	5	4	5	5	5	5
Animal 6	1	2	3	3	3	5	5	6	6
Animal 7	2	5	5	6	6	6	6	7	9
Animal 8	6	8	4	6	6	7	6	7	6

POAP Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	1	1	1	4	2	4	1
Animal 2	2	1	0	0	1	1	2
Animal 3	3	4	4	4	4	5	**5**
Animal 4	0	0	0	0	-1	0	-1
Animal 5	1	2	1	2	1	4	3
Animal 6	4	5	5	4	4	6	6
Animal 7	2	3	1	4	2	4	5
Animal 8	2	3	3	4	4	3	3

POAP Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	7	8	11	9	9	9	9
Animal 2	4	5	5	5	3	5	6
Animal 3	4	6	4	5	4	5	**5**
Animal 4	3	3	4	4	3	3	3
Animal 5	0	1	1	1	1	1	1
Animal 6	1	4	3	4	4	5	5
Animal 7	4	6	14	12	10	9	8
Animal 8	4	5	6	6	6	5	6

POAP Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	0	5	3	3	3	3	4
Animal 2	0	2	2	4	2	1	1
Animal 3	0	1	1	2	3	3	**2**
Animal 4	4	9	4	5	6	6	7
Animal 5	6	7	8	8	7	8	8
Animal 6	3	2	3	4	5	4	4
Animal 7	3	4	4	4	4	4	4
Animal 8	1	3	2	4	5	6	7

Apêndice G- Valores individuais do índice de resistência vascular pulmonar (IRVP) (dinas/seg/cm^{-5}/m^{2}) coletados de ovinos anestesiados dos grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm e dos grupos históricos Sham, PE, PE+Adm,

IRVP Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	173	588	590	574	546	439	442	396	433
Animal 2	249	588	524	540	669	486	786	829	845
Animal 3	112	519	440	485	547	513	462	508	531
Animal 4	177	679	512	611	614	559	634	577	547
Animal 5	174	403	298	705	808	662	571	642	666
Animal 6	243	976	621	683	548	402	546	615	672
Animal 7	151	413	290	435	473	422	416	504	408
Animal 8	106	537	491	395	412	367	287	310	238

IRVP Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	120	272	226	552	438	481	465	199	277
Animal 2	167	533	453	617	633	542	499	787	851
Animal 3	72	378	294	345	369	229	267	300	250
Animal 4	81	356	333	267	154	232	224	244	265
Animal 5	206	347	309	743	729	679	659	672	681
Animal 6	148	698	592	507	465	437	424	315	324
Animal 7	93	357	330	251	303	192	164	235	273
Animal 8	111	931	710	931	600	589	586	612	704

IRVP Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	284	182	185	128	170	166	187
Animal 2	236	278	310	289	248	248	171
Animal 3	264	236	249	267	273	241	235
Animal 4	175	159	153	170	215	167	210
Animal 5	107	59	60	69	74	49	79
Animal 6	262	237	258	251	255	213	233
Animal 7	149	163	217	153	238	190	127
Animal 8	137	158	114	142	131	125	109

IRVP Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	153	416	411	411	361	373	385
Animal 2	132	720	725	778	885	856	749
Animal 3	179	605	564	528	591	508	670
Animal 4	104	344	284	248	265	247	247
Animal 5	134	324	291	406	297	284	340
Animal 6	405	983	1087	1049	945	817	900
Animal 7	247	805	343	523	646	695	686
Animal 8	111	358	414	389	395	404	355

IRVP Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	378	987	1056	868	866	923	983
Animal 2	212	649	653	543	527	502	524
Animal 3	137	502	429	360	324	402	416
Animal 4	158	299	371	354	170	328	299
Animal 5	195	487	414	335	274	285	284
Animal 6	157	513	524	406	351	318	344
Animal 7	135	296	314	255	265	235	247
Animal 8	143	502	498	392	427	420	396

Apêndice H- Valores individuais da pressão arterial média (PAM) (mmHg) para cada momento (grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm e grupos históricos Sham, PE, PE+Adm).

PAM Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	98	106	96	86	87	94	95	96	95
Animal 2	111	106	114	92	63	46	40	37	32
Animal 3	95	101	103	115	114	115	113	108	106
Animal 4	94	108	107	106	99	103	111	115	110
Animal 5	94	99	102	94	90	92	91	84	81
Animal 6	110	111	112	104	109	120	123	121	120
Animal 7	78	91	96	101	96	100	101	97	93
Animal 8	104	124	103	93	100	112	118	113	113

PAM Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	89	101	97	94	91	78	54	52	48
Animal 2	85	105	102	93	81	79	55	41	33
Animal 3	88	107	102	114	109	104	112	115	117
Animal 4	104	98	89	94	98	94	86	95	96
Animal 5	83	89	87	61	86	55	50	53	50
Animal 6	94	89	88	90	89	79	79	83	81
Animal 7	101	98	99	93	105	101	92	121	117
Animal 8	102	81	72	54	96	85	43	46	41

PAM Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	87	89	83	120	92	84	89
Animal 2	93	89	87	75	62	59	60
Animal 3	86	92	81	85	83	80	75
Animal 4	84	78	73	70	76	66	65
Animal 5	92	92	93	93	94	96	94
Animal 6	93	95	98	96	95	93	98
Animal 7	98	99	104	106	109	106	110
Animal 8	91	95	90	91	83	87	79

PAM Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	102	100	102	101	102	97	96
Animal 2	82	90	89	85	88	90	87
Animal 3	81	98	98	103	105	105	105
Animal 4	108	97	103	106	105	103	100
Animal 5	91	90	90	89	94	85	84
Animal 6	104	102	102	95	92	87	82
Animal 7	91	69	55	55	58	56	59
Animal 8	91	76	72	75	77	68	65

PAM Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	89	62	76	49	53	52	55
Animal 2	78	100	88	62	64	73	72
Animal 3	101	97	101	86	79	92	98
Animal 4	102	99	98	83	80	85	89
Animal 5	68	56	59	53	53	54	59
Animal 6	93	91	88	66	51	54	53
Animal 7	94	85	90	85	76	68	66
Animal 8	105	108	106	98	81	71	64

Apêndice I- Valores individuais do índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) (dinas/seg/cm^{-5}/m^{2}) para cada momento (grupos Dox+PE e Dox+PE+Adm e grupos históricos Sham, PE, PE+Adm).

IRVS Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2630	3213	3043	2940	3037	2752	2802	2741	2769
Animal 2	3393	3213	3263	4003	3035	2212	1780	1657	1427
Animal 3	2119	2932	2878	3165	2863	2872	2960	3520	3613
Animal 4	2679	3575	3935	2940	2917	3461	3952	4533	4420
Animal 5	2310	2708	2656	3445	3994	3970	3345	3439	3471
Animal 6	3777	4127	3792	3557	2848	2081	3018	3366	3833
Animal 7	1939	3226	2929	2507	2339	2385	2521	2788	2418
Animal 8	2193	2708	2944	2137	2549	2692	2337	2276	1853

IRVS Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2087	2202	2122	2956	3174	2193	1987	1789	1622
Animal 2	2003	3227	3202	2746	3046	2505	1712	2058	1703
Animal 3	2102	2697	2700	2788	2844	1574	1726	2264	2215
Animal 4	2095	2574	2827	2379	1789	1359	1107	1550	1836
Animal 5	2082	2321	2626	2490	2988	1887	1350	1580	1497
Animal 6	2744	4291	3871	3152	2856	2342	1935	1776	1784
Animal 7	1862	2853	3232	2305	2837	1436	1022	2093	2549
Animal 8	1891	2987	2333	1900	1761	1511	905	1057	1011

IRVS Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2410	1661	1447	1842	1623	1643	1962
Animal 2	1999	2015	2167	2171	2229	2088	2052
Animal 3	2777	2627	1918	2435	2129	2611	2056
Animal 4	2933	2515	2262	2407	2761	2240	2308
Animal 5	1924	1347	1102	1054	1146	1160	1474
Animal 6	2194	2208	2251	1967	2152	2424	3164
Animal 7	1831	2014	2253	2002	2570	2491	1960
Animal 8	3082	3756	3373	3189	2648	3553	2833

IRVS Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2469	2976	3548	3479	3428	3021	2820
Animal 2	1495	3257	3082	3153	3061	2911	2793
Animal 3	2321	3670	3084	3041	3476	3175	4785
Animal 4	2232	1942	1911	1863	1819	1783	1844
Animal 5	1506	1565	1557	1571	1658	1527	1700
Animal 6	3115	3736	3866	3590	3212	2725	3069
Animal 7	3616	3680	2859	2565	2536	2431	2378
Animal 8	3183	2866	2777	2473	2587	2315	2131

IRVS Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2349	2962	2803	1459	1391	1401	1559
Animal 2	2071	2621	2160	1164	1055	1272	1292
Animal 3	1706	1768	2020	1374	1172	1556	1796
Animal 4	2575	2608	1959	1664	1611	1642	1814
Animal 5	2044	1947	1919	1187	948	986	1092
Animal 6	2884	2851	2785	1797	1244	1200	1272
Animal 7	2451	2179	2453	1746	1766	1529	1483
Animal 8	2951	2441	2512	2190	2053	2167	2121

Apêndice J- Valores individuais da pressão venosa central (PVC) (mmHg) para cada momento (grupos, Dox+PE e Dox+PE+Adm e grupos históricos Sham, PE, PE+Adm).

PVC Grupo Dox+PE

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	1	5	-2	-1	-2	0	0	-1	-1
Animal 2	2	5	2	3	4	5	6	5	5
Animal 3	0	5	5	4	4	3	4	4	4
Animal 4	3	8	7	5	4	4	5	5	5
Animal 5	1	5	4	6	6	8	9	9	8
Animal 6	1	1	2	5	5	6	7	6	6
Animal 7	1	5	5	3	2	4	4	3	4
Animal 8	1	3	1	1	1	2	4	3	4

PVC Grupo Dox+PE+Adm

	BL	$Doxi_{15}$	$Doxi_{30}$	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2	4	3	3	4	5	7	7	7
Animal 2	1	2	3	4	4	5	7	7	7
Animal 3	1	0	1	1	1	1	2	2	2
Animal 4	1	4	4	5	5	6	7	6	6
Animal 5	2	2	2	4	4	5	7	6	6
Animal 6	1	3	3	3	3	4	6	4	4
Animal 7	1	2	1	1	2	4	5	5	5
Animal 8	0	4	3	5	5	8	9	8	8

PVC Grupo Sham

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2	7	5	5	6	5	5
Animal 2	0	2	3	0	-1	0	0
Animal 3	2	3	4	3	5	4	**5**
Animal 4	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1
Animal 5	2	1	1	1	1	1	1
Animal 6	1	2	2	2	2	2	3
Animal 7	0	0	0	1	1	1	2
Animal 8	1	0	1	1	2	2	1

PVC Grupo PE

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	5	7	7	8	7	8	8
Animal 2	3	4	4	4	5	5	5
Animal 3	3	7	5	5	5	5	**5**
Animal 4	1	1	2	1	2	2	3
Animal 5	1	3	-1	0	-1	-1	-1
Animal 6	4	7	6	6	7	7	7
Animal 7	3	5	5	6	7	7	7
Animal 8	5	4	5	5	5	5	5

PVC Grupo PE+Adm

	BL	PE_{15}	PE_{30}	Adm_{15}	Adm_{30}	PT_{15}	PT_{30}
Animal 1	2	8	7	7	8	8	9
Animal 2	0	3	2	2	2	2	3
Animal 3	1	2	2	2	3	3	**3**
Animal 4	4	3	3	3	4	5	4
Animal 5	5	8	8	7	8	9	9
Animal 6	1	2	3	4	5	5	5
Animal 7	3	4	4	3	4	4	6
Animal 8	2	1	0	3	4	4	5