DANIELLA APARECIDA GODOI KEMPER

**Efeitos do sildenafil em modelo experimental de
endotoxemia em suínos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Anestesiologia

Orientador: Prof^a. Dr^a. Denise Tabacchi Fantoni

**SÃO PAULO
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kemper, Daniella Aparecida Godoi

Efeitos do sildenafil em modelo experimental de endotoxemia em suínos /
Daniella Aparecida Godoi Kemper. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Anestesiologia.

Orientadora: Denise Tabacchi Fantoni.

Descritores: 1.Sildenafil 2.Hipertensão pulmonar 3.Choque séptico 4.Suínos
5.Modelos animais 6.Endotoxemia

USP/FM/DBD-463/15

Ao meu filho Eduardo, meu grande companheiro no doutorado, por trazer paz, alegria e sentido em minha vida.

Aos meus pais, Vera Lúcia (no coração), Marlene e José Laerte, pelo amor incondicional que me transmitem.

Aos meus irmãos, Patrícia e Eduardo, e às minhas sobrinhas, Bianca, Amanda e Marina, pelo carinho, apoio e união em todos os momentos.

Ao meu marido Bernardo, pelo companheirismo, amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni, pelo carinho, alegria, confiança, amizade, e por ser fonte de ensinamento e inspiração à todos ao seu redor.

Ao querido Prof. Dr. José Otávio Costa Auler Jr, pelo grande exemplo na área acadêmica e pela inestimável ajuda no momento mais crítico da minha vida.

À querida Dra. Denise Otsuki, pela alegre amizade construída durante a elaboração do experimento, bem como pelo inestimável apoio, paciência, incentivo e auxílio na elaboração desta tese.

À querida Dra. Débora Maia, por todo o suporte e amizade durante a realização deste estudo.

Ao querido Sr. Gilberto Nascimento, pelo auxílio indispensável durante a parte experimental da tese.

À Dra. Ludhmila Hajjar e sua equipe, pela brilhante sugestão do tema da tese.

Ao querido amigo Prof. Dr. Rogério Anderson Marcasso, pela realização da análise histopatológica, bem como pelo incentivo e parceria.

À Dra. Cristina Massoco, pela análise das citocinas inflamatórias.

Aos membros da banca de qualificação, Dr. Juliano Almeida, Dra. Roseny Rodrigues e Dra. Keila Ida, pelas brilhantes sugestões para a melhoria deste trabalho.

Aos amigos e colegas de trabalho da UNOPAR Prof. Pedro Henrique Carvalho, Prof. Bernardo Kemper, Prof. Werner Okano e Prof. Luiz César Silva, pelo apoio e compreensão perante à minha ausência.

Às amigas Jaqueline França, Jakeline Paola e Anna Carolina pela valiosa amizade e pela força durante a minha estada em São Paulo.

Aos colegas de pós-graduação André Luís Corrêa e Cristiane Luchesi pela colaboração no estudo.

Às amigas Lara Faccó, Flávia Navas, Andreza Schiavoni, Larissa Cardozo, Roberta Figueiredo, Carla Holms, Teresa Souto e Márcia Kahvegian, pelo apoio e amizade.

Aos professores que passaram em minha vida, pela valiosa contribuição na minha formação acadêmica.

Agradeço imensamente a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	4
2.1	Objetivo Primário	5
2.2	Objetivos Secundários.....	5
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	6
3.1	Choque Séptico	7
3.1.1	Alterações cardiovasculares	9
3.1.2	Hipertensão arterial pulmonar	11
3.2	Sildenafil.....	14
4	MÉTODOS	17
4.1	Local de Realização e Comitê de Ética	18
4.2	Animais.....	18
4.3	Protocolo Anestésico	18
4.4	Preparo e Monitoração	19
4.5	Procedimento de Indução ao Choque Endotoxêmico.....	20
4.6	Parâmetros Hemodinâmicos	21
4.7	Parâmetros Ventilatórios	22
4.8	Parâmetros Hemogasométricos, Eletrolíticos, de Perfusão e Oxigenação	23
4.9	Estudo Ecodopplercardiográfico.....	25
4.10	Citocinas Inflamatórias e Troponina I Cardíaca.....	25
4.11	Análise Histopatológica	26
4.12	Determinação de Grupos, Dose, Coletas e Delineamento Experimental	29
4.13	Análise Estatística	31
5	RESULTADOS.....	32
5.1	Peso dos Animais.....	33
5.2	Parâmetros Hemodinâmicos	33
5.3	Parâmetros Ventilatórios	47
5.4	Parâmetros Hemogasométricos, Eletrolíticos, de Perfusão e Oxigenação	52

5.5	Estudo Ecodopplercardiográfico.....	63
5.6	Citocinas Inflamatórias e Troponina I Cardíaca.....	65
5.7	Análise Histopatológica	68
6	DISCUSSÃO	70
7	CONCLUSÕES	81
8	REFERÊNCIAS.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ang-1 -	Angiopoetina-1
ANOVA -	Análise de variância
CaO ₂ -	Conteúdo de Oxigênio Arterial
CcO ₂ -	Conteúdo de Oxigênio no Capilar Pulmonar
Cdyn -	Complacência Dinâmica
CTL -	Grupo Controle
CvO ₂ -	Conteúdo de Oxigênio Venoso
DC -	Débito Cardíaco
DO ₂ I -	Índice de Oferta de Oxigênio
EB -	Excesso de Base
ELISA -	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
eNOS -	Óxido Nítrico Sintase Constitutiva
EtCO ₂ -	Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado
FC -	Frequência Cardíaca
FDA -	<i>Food and Drug Administration</i>
FEVE -	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
FiO ₂ -	Fração Inspirada de Oxigênio
FMUSP -	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GMPc -	Monofosfato de Guanosina Cíclico
HCO ₃ -	Bicarbonato
Ht -	Hematócrito
IC -	Índice Cardíaco
ICEVAP -	Índice de Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar
IFC -	Índice da Função Cardíaca
IL1 -	Interleucina-1
IL10 -	Interleucina-10
IL1β -	Interleucina-1β

IL6 -	Interleucina-6
iNOS -	Óxido Nítrico Sintase Induzida
IPVP -	Índice de Permeabilidade Vascular Pulmonar
IRVP -	Índice de Resistência Vascular Pulmonar
IRVS -	Índice de Resistência Vascular Sistêmica
ITSVD -	Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Direito
ITSVE -	Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Esquerdo
IVDF -	Índice do Volume Diastólico Final
IVDFG -	Índice do Volume Diastólico Final Global
IVS -	Índice do Volume Sistólico
IVSF -	Índice do Volume Sistólico Final
IVSIT -	Índice do Volume Sanguíneo Intratorácico
K ⁺ -	Potássio
KCl -	Cloreto de potássio
LPS -	Lipopolissacarídeo
Na ⁺ -	Sódio
NO -	Óxido Nítrico
P(A - a)O ₂ -	Gradiente Alveolar Arterial de Oxigênio
PaCO ₂ -	Pressão Parcial de Dióxido de Carbono
PAF -	<i>Platelets Aggregation Factor</i>
PAM -	Pressão Arterial Média
PaO ₂ -	Pressão Parcial de Oxigênio
PaO ₂ /FiO ₂ -	Relação Pressão Parcial de Oxigênio/Fração Inspirada de Oxigênio
PAP -	Pressão Arterial Pulmonar
PAPD -	Pressão Arterial Pulmonar Diastólica
PAPM -	Pressão Arterial Pulmonar Média
PAPS -	Pressão Arterial Pulmonar Sistólica
PB -	Pressão Barométrica
PD -	Porção Dependente
PEEP -	Pressão Positiva no Final da Expiração
PH ₂ O -	Pressão do vapor de água

pHa -	Potencial de Hidrogênio Arterial
PI -	Porção Intermediária
Pmedia -	Pressão Média das Vias Aéreas
PND -	Porção não dependente
Ppausa -	Pressão de Platô das Vias Aéreas
Ppico -	Pressão de Pico das Vias Aéreas
PVC -	Pressão Venosa Central
Qs/Qt -	<i>Shunt</i> Intrapulmonar
Res -	Resistência das Vias Aéreas
RVP -	Resistência Vascular Pulmonar
RVS -	Resistência Vascular Sistêmica
SaO ₂ -	Saturação Arterial de Oxigênio
SIL -	Grupo Sildenafil
SSC -	<i>Surviving Sepsis Campaign</i>
STE -	<i>Speckle - tracking</i>
SvO ₂ -	Saturação Venosa Mista de Oxigênio
TeO ₂ -	Taxa de Extração de Oxigênio
TNF- α -	Fator de Necrose Tumoral Alfa (<i>Tumor Necrosis Factor-α</i>)
TNNI -	Troponina Cardíaca I
UTI -	Unidade de Terapia Intensiva
VD -	Ventrículo Direito
VDFVD -	Volume Diastólico Final do Ventrículo Direito
VDFVE -	Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo
VE -	Ventrículo Esquerdo
VM -	Volume Minuto
VO ₂ l -	Índice de Consumo de Oxigênio
VPP -	Variação da Pressão de Pulso
VSFVE -	Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo
VVS -	Variação do Volume Sistólico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hemodinâmicos dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL).....	34
Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros ventilatórios dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL).....	48
Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão dos gases sanguíneos e eletrólitos dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL).....	53
Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros de oxigenação e perfusão dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL).....	54
Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros ecocardiográficos dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	64
Tabela 6 - Mediana e percentil (25%-75%) da concentração sérica de citocinas e da troponina cardíaca dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL)	66
Tabela 7 - Mediana (máx-mín) dos escores histopatológico dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	68

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	37
Gráfico 2 -	Valores médios e desvio padrão da pressão arterial média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	38
Gráfico 3 -	Valores médios e desvio padrão da pressão da artéria pulmonar média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	39
Gráfico 4 -	Valores médios e desvio padrão da pressão venosa central (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	40
Gráfico 5 -	Valores médios e desvio padrão do índice cardíaco (L/min/m ²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	41
Gráfico 6 -	Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular sistêmica (dina-seg/cm-5/m ²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	42
Gráfico 7 -	Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular pulmonar (dina-seg/cm-5/m ²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	43
Gráfico 8 -	Valores médios e desvio padrão do índice do trabalho sistólico do ventrículo esquerdo e direito (g/m ² /batimento) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	44
Gráfico 9 -	Valores médios e desvio padrão do índice da variação da pressão de pulso e da variação do volume sistólico (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	45
Gráfico 10 -	Valores médios e desvio padrão do índice do índice de conteúdo extravascular de água pulmonar (mL/kg), índice do volume sanguíneo intratorácico (mL/m ²), índice de volume diastólico final global (mL/m ²) e índice de permeabilidade vascular pulmonar dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	47
Gráfico 11 -	Valores médios e desvio padrão da pressão parcial de dióxido de carbono expirado (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	49

Gráfico 12 - Valores médios e desvio padrão da complacência dinâmica (mL/cmH ₂ O) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	50
Gráfico 13 - Valores médios e desvio padrão da pressão de pico e da pressão de platô das vias aéreas (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	51
Gráfico 14 - Valores médios e desvio padrão do pH arterial, PaCO ₂ , bicarbonato e lactato dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	56
Gráfico 15 - Valores médios e desvio padrão da SvO ₂ dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	57
Gráfico 16 - Valores médios e desvio padrão do hematócrito (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	58
Gráfico 17 - Valores médios e desvio padrão dos índices de oferta e consumo de oxigênio (mL/min/m ²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	59
Gráfico 18 - Valores médios e desvio padrão da taxa de extração de oxigênio (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	60
Gráfico 19 - Valores médios e desvio padrão de shunt intrapulmonar (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	61
Gráfico 20 - Valores médios e desvio padrão da relação PaO ₂ /FiO ₂ dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	62
Gráfico 21 - Mediana e percentil (25%-75%) da concentração sérica de citocinas (pg/mL) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil	65
Gráfico 22 - Mediana e percentil (25%-75%) da concentração sérica de troponina I cardíaca (ng/mL) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil.....	67

RESUMO

Kemper DAG. *Efeitos do sildenafil em modelo experimental de endotoxemia em suínos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

INTRODUÇÃO: Apesar de todos os esforços, as taxas de mortalidade no choque séptico ainda são altas, e entre as diversas complicações deste quadro, a hipertensão pulmonar é considerada um fator agravante. O sildenafil é um fármaco com efeito vasodilatador arterial pulmonar que atua através da inibição da fosfodiesterase 5, aumentando o GMPcíclico e promovendo relaxamento da musculatura lisa. **OBJETIVO:** Avaliar se a administração de sildenafil atenua as alterações hemodinâmicas ocasionadas pelo choque endotoxêmico, bem como os parâmetros de ventilação e oxigenação em modelo experimental de endotoxemia em suínos. **MÉTODOS:** Foram utilizados 20 suínos nos quais o choque endotoxêmico foi induzido através da infusão intravenosa de LPS (4µg/kg/h). Os animais foram randomizados e alocados da seguinte maneira: Controle (CTL, n=10) – submetidos apenas ao choque endotoxêmico; Sildenafil (SIL, n=10) – tratados com sildenafil na dose de 100 mg por via oral antes de serem submetidos ao choque endotoxêmico. Foram avaliados os parâmetros hemodinâmicos, ventilatórios, e de oxigenação, a partir do momento Basal até 180 minutos da infusão de LPS. Os efeitos inflamatórios e de lesão miocárdica também foram avaliados, bem como a análise histopatológica do tecido pulmonar. Os dados paramétricos foram analisados utilizando ANOVA de duas vias para medidas repetidas, seguidas por Tukey quando necessário, enquanto para os dados não paramétricos utilizou-se o teste de *Mann-Whitney*. **RESULTADOS:** A endotoxemia induziu hipertensão pulmonar com aumento significativo na pressão arterial pulmonar e no índice de resistência vascular pulmonar, e também diminuição na PaO₂ / FiO₂. A

pressão arterial pulmonar e sistêmica foram significativamente menores no grupo Sildenafil, sendo que os valores máximos de PAPM observados aos 30 minutos de infusão de LPS foram 35 e 52 mmHg, nos grupos Sildenafil e Controle, respectivamente. O Sildenafil manteve a oxigenação, através de maior relação PaO_2/FiO_2 e maior SvO_2 , porém não apresentou efeito sobre a fração de *shunt* intrapulmonar. Todas as citocinas e a troponina aumentaram após a infusão de LPS e não foi observada diferença significativa entre os grupos. O sildenafil não atenuou as lesões histopatológicas decorrente do choque endotoxêmico. **CONCLUSÃO:** O sildenafil atenuou a hipertensão pulmonar induzida pela endotoxemia, porém acarretou diminuição da pressão arterial sistêmica. O sildenafil manteve a oxigenação sem alterar a fração de *shunt* intrapulmonar. Não houve efeitos sobre as lesões pulmonares, nas citocinas inflamatórias e na troponina I cardíaca.

Descritores: Sildenafil. Hipertensão pulmonar. Choque séptico. Suínos. Modelos animais. Endotoxemia.

ABSTRACT

Kemper DAG. *Effects of sildenafil in experimental model of endotoxemia in pigs* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2015.

INTRODUCTION: Despite all efforts, mortality rates in septic shock are still high, and among the various complications pulmonary hypertension is considered a poor prognostic factor. Sildenafil is a drug with pulmonary arterial vasodilator effect, acts through inhibition of phosphodiesterase V that increases GMPc promoting the vasodilator effect. **OBJECTIVE:** Evaluate if sildenafil attenuates hemodynamic changes caused by septic shock, as well as ventilation and oxygenation parameters in an experimental model of endotoxemia in pigs. **METHODS:** Twenty pigs in which endotoxemia was induced through intravenous LPS infusion (4µg/kg/h) were randomly assigned to Control group (CTL, n = 10) – which received saline solution previous the endotoxemia; or to Sildenafil group (SIL, n = 10) – which received sildenafil orally (100 mg) previous the endotoxemia. Hemodynamic, ventilation and oxygenation were evaluated from at baseline up to 180 minutes of LPS infusion. The inflammatory and myocardial damage effects were also evaluated. Lung tissue was collected for histological analysis. Parametric data were compared using two-way repeated measures ANOVA, followed by Tukey test when necessary, while for non-parametric data the Mann-Whitney test was used. **RESULTS:** Endotoxemia induced pulmonary hypertension with an increase in pulmonary arterial pressure and pulmonary vascular resistance index and also a decrease in PaO₂/FiO₂. Pulmonary and systemic arterial pressures were significantly lower in the Sildenafil group, wherein the PAPM maximum values observed at 30 minutes of LPS infusion were 35 and 52 mmHg in the sildenafil and control groups, respectively. Sildenafil maintained oxygenation with superior PaO₂/FiO₂ and higher SvO₂, but had no effect on

intrapulmonary shunt. All cytokines and troponin increased after LPS infusion and there was no significant intergroup difference. Sildenafil did not attenuate the histologic alterations from endotoxemic shock. **CONCLUSION:** Sildenafil attenuated pulmonary hypertension induced by endotoxemia, but decreased systemic blood pressure. Sildenafil maintained oxygenation without effecting shunt fractioning. There was no effect in lung injuries, cytokines and troponin.

Descriptors: Hypertension, pulmonary. Shock, septic. Models, animal. Endotoxemia.

1 INTRODUÇÃO

Apesar de milhares de estudos científicos, a sepse continua sendo um grande desafio para a medicina contemporânea, sendo a principal causa de morte nas unidades de terapia intensiva¹.

A sepse é caracterizada pela liberação maciça de mediadores inflamatórios em resposta à injúria tecidual, causada direta ou indiretamente por microorganismos patogênicos. Leva a um quadro de hipotensão sistêmica, hipertensão pulmonar, vasculite e lesão endotelial, distúrbios de coagulação culminando em coagulação intravascular disseminada, colapso cardiovascular e falência múltipla de órgãos²⁻⁴.

Entre as diversas complicações do choque séptico, a hipertensão pulmonar é considerada um fator agravante. A hipertensão pulmonar faz aumentar a pós-carga do ventrículo direito (VD), o que tende a reduzir o débito e função ventricular direita. Sua etiologia é atribuída a fatores como microtrombose pulmonar decorrente da liberação de fator de agregação plaquetária, ou da liberação de mediadores inflamatórios como Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF α) e Óxido Nítrico (NO)⁵⁻⁸.

Até o momento não existe um consenso sobre a abordagem terapêutica da hipertensão pulmonar na sepse. A eficácia de uma terapia vasodilatadora pulmonar tem sido limitada pela ausência de seletividade e potência. A maioria dos fármacos considerados vasodilatadores pulmonares

possui ação vasodilatadora sistêmica associada, além de um efeito não proeminente na circulação pulmonar⁷.

O sildenafil é um fármaco com efeito vasodilatador arterial pulmonar, que atua através da inibição da fosfodiesterase5, aumentando o GMP cíclico e prolongando o efeito vasodilatador do NO. O sildenafil é atualmente aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para uso no tratamento de hipertensão pulmonar em adultos e tem sido associado à redução significativa dos valores de pressão arterial pulmonar (PAP), melhora da capacidade funcional e da qualidade de vida destes pacientes⁹. Entretanto, seus efeitos em situações de sepse grave e choque séptico ainda não foram elucidados. Dessa forma, este estudo tem o intuito de avaliar os efeitos hemodinâmicos desse fármaco em modelo experimental de choque séptico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Primário

O objetivo deste estudo foi avaliar se a administração de sildenafil atenua as alterações hemodinâmicas ocasionadas pelo choque endotoxêmico, bem como os parâmetros de ventilação e oxigenação em modelo experimental de endotoxemia em suínos.

2.2 Objetivos Secundários

- a) Realizar estudo ecodopplercardiográfico transesofágico.
- b) Quantificar os níveis séricos dos marcadores inflamatórios [(TNF- α , Interleucina-1 β (IL1 β), Interleucina-6 (IL6) e Interleucina-10 (IL10)].
- c) Avaliar o dano miocárdico através da dosagem de troponina I sérica.
- d) Avaliar a histopatologia do tecido pulmonar.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Choque Séptico

A sepse é a resposta inflamatória sistêmica decorrente de um processo infeccioso. De acordo com a definição clássica, esta resposta é reconhecida pela presença de dois ou mais dos seguintes sinais clínicos: taquicardia, taquipneia, febre ou hipotermia, leucocitose, leucopenia ou desvio à esquerda, sem uma causa conhecida que explique estas alterações. Ela pode evoluir para a sepse grave, que é a sepse somada a hipotensão arterial sistêmica, sinais de hipoperfusão tecidual (acidose láctica, oligúria, alteração do estado mental etc.) e/ou disfunção orgânica, ou para o choque séptico, que é a sepse grave com hipotensão arterial sistêmica refratária à fluidoterapia, com sinais de hipoperfusão tecidual e/ou disfunção orgânica. Por fim, pode ocorrer a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos, fase final em que ocorre a falência progressiva dos órgãos e morte^{4,10,11}.

A incidência de sepse na população mundial varia de 22 a 240/100.000; de 13 a 300/100.000 nos quadros de sepse grave; e para o choque séptico a incidência é de 11/100.000. A mortalidade depende da doença e da região, que pode chegar a 30% na sepse, 50% na sepse grave e 80% no choque séptico¹². Estima-se que mundialmente ocorram 31,5 e 19,4 milhões de casos por ano de sepse e sepse grave, respectivamente, com potencialmente 5,3 milhões de mortes por ano¹³.

De fato, a sepse apresenta grande relevância em termos de saúde pública. Angus *et al.*¹⁴ estudaram 192.980 casos de sepse grave, compreendidos em uma coorte de mais de 6,5 milhões de pacientes internados em 847 hospitais dos EUA e estimaram sua incidência, custo e prognóstico. A incidência de sepse grave foi de três casos por mil habitantes, e evolução para óbito em 215.000 casos (28,6%). Os achados relativos aos países membros da União Europeia não diferem muito deste panorama, estimando-se a ocorrência de 150.000 óbitos/ano devido à sepse¹⁵

No Brasil, ocorrem cerca de 500.000 casos de sepse grave ao ano, sendo que em estudo de coorte multicêntrico realizado em 75 hospitais a incidência de sepse, sepse grave ou choque séptico nas unidades de terapia intensiva foi de 16,7%, com mortalidade global em 28 dias de 46,6%¹⁶. Em estudo semelhante, Silva *et al.*¹⁷ mostraram mortalidade na sepse grave e choque séptico de 46,9% e 52,2%, respectivamente, evidenciando elevada mortalidade nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) brasileiras.

Contudo, apesar de muitos estudos demonstrarem um aumento da incidência de sepse ao longo do tempo, as estratégias da *Surviving Sepsis Campaign* (SSC) foram associadas a uma significativa diminuição na mortalidade^{18,19}. Segundo Castellanos-Ortega *et al.*²⁰ a mortalidade de pacientes com choque séptico foi reduzida em 20% após a implementação das estratégias da SSC em três hospitais escolas na Espanha. Na China também se observou grande impacto, com redução de 13,2% na mortalidade de pacientes com choque séptico após a SSC²¹. No Brasil, a implementação das estratégias da SSC está associada à discreta redução da mortalidade e

com efeito efêmero, provavelmente pela falta de melhorias no atendimento e diagnóstico tardio, acarretando atraso na intervenção²².

3.1.1 Alterações cardiovasculares

A evolução da sepse para o choque séptico ocasiona três eventos cardiovasculares significantes: (a) aumento da permeabilidade vascular; (b) diminuição do tônus vascular; e (c) depressão da contratilidade cardíaca²³.

O endotélio vascular é fundamental na homeostase orgânica, no tônus vasomotor, na hemostasia e na circulação de leucócitos. A ativação endotelial contribui para a resposta inflamatória do organismo por meio da liberação de moléculas sinalizadoras como a E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1. Essas substâncias facilitam a migração de leucócitos e promovem coagulação local. A ativação endotelial, como uma resposta inicial à infecção, auxilia na prevenção da disseminação da infecção²⁴. Entretanto, na sepse, esta resposta adaptativa torna-se amplificada e disfuncional ocasionando aumento da permeabilidade vascular, que contribui para a formação de edema, hipotensão e choque²³. Desta forma, novas estratégias terapêuticas focando na permeabilidade vascular estão sendo estudadas²⁵.

Atualmente está sendo conduzidos estudos para avaliar o efeito da angiopoetina-1 (Ang-1), uma glicoproteína da família de fatores de crescimento especificamente vascular que estabiliza o endotélio vascular, promove maturação endotelial e previne extravasamento capilar. Segundo Alfieri *et al.*²⁶, a administração de MAT.Ang-1 na sepse, protege a microcirculação da disfunção vascular induzida pela endotoxemia por meio da redução da inflamação.

Apesar da diminuição da permeabilidade vascular e da contratilidade miocárdica contribuir para hipotensão arterial, a diminuição do tônus vascular é o principal fator que acarreta hipotensão arterial na sepse²⁷. O mecanismo molecular deste colapso circulatório é multifatorial e não totalmente compreendido. Sabe-se que a produção massiva de NO e de prostaglandinas ocasionam vasodilatação na sepse. No entanto, os inibidores de produção de óxido nítrico sintetase e de prostaglandina não foram capazes de melhorar a sobrevida em pacientes sépticos. Isto indica que outros mecanismos nocivos podem estar envolvidos na insuficiência circulatória no choque séptico²⁸.

A depressão miocárdica associada à sepse é uma das manifestações da disfunção orgânica e caracteriza-se por dilatação biventricular reversível, disfunção contrátil, redução de funções sistólica e diastólica, e por redução das respostas à reanimação volêmica e a vasopressores, na presença de uma circulação hiperdinâmica. Contudo, a redução grave da pós-carga no choque séptico pode mascarar o comprometimento cardíaco, permitindo que um coração gravemente doente seja capaz de manter um débito cardíaco (DC) aparentemente "normal"²⁹.

Estima-se que a disfunção do sistema cardiovascular ocorra em 40% dos pacientes com sepse. A taxa de mortalidade aumenta de 20% a 30% na sepse sem acometimento cardiovascular para 40% a 70% no choque séptico. O maior conhecimento sobre a fisiopatologia da sepse envolvendo a inflamação e a imunomodulação sustenta a ideia de que diversos mediadores estejam envolvidos na cardiodepressão da sepse, tais como o TNF- α , a interleucina 1 (IL-1) e o NO³⁰.

Os biomarcadores para a disfunção cardíaca são úteis durante o tratamento do choque séptico. O aumento dos níveis de troponina ocorre em metade dos pacientes com choque séptico e está associado à disfunção do ventrículo esquerdo (VE), bem como ao pior prognóstico^{31,32}. De fato, a elevação dos níveis de troponina pode ser usada para prever o curso clínico em pacientes que ainda não desenvolveram choque. Por exemplo, Rosjo *et al.*³³ demonstraram que a elevação da troponina T pode prever choque subsequente em pacientes com sepse grave.

3.1.2 Hipertensão arterial pulmonar

Ao contrário da circulação sistêmica, a resistência da vasculatura pulmonar encontra-se, em geral, aumentada na sepse, especialmente na presença de lesão pulmonar aguda. A fisiopatologia da hipertensão pulmonar na sepse é multifatorial e os principais mecanismos são: a diminuição da produção de NO; e a produção de tromboxano, endotelina, e fator de agregação plaquetária^{7, 34-37}.

O óxido nítrico é produzido, sob condições fisiológicas, por estímulo da enzima óxido nítrico sintase constitutiva (eNOs), produzida principalmente pelas células endoteliais. Ele regula o tônus vascular e inibe a agregação plaquetária, e sua liberação é controlada pela pressão do fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais^{38,39}. Porém, a endotoxemia resulta na estimulação, mediada por citocinas, da produção da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOs) pelos macrófagos, hepatócitos, células cardíacas e, em especial, pelas células da musculatura lisa vascular. O NO, em excesso,

ocasiona perda da responsividade à noradrenalina, com diminuição do tônus e perda da capacidade da autorregulação endotelial⁴⁰⁻⁴².

Entretanto, apesar da iNOS ser produzida pela musculatura lisa vascular, o papel da iNOS na artéria pulmonar é complexo e ainda não foi totalmente elucidado. Pulido *et al.*⁴³ avaliaram a diferença da expressão da iNOS na circulação sistêmica e pulmonar de ratos submetidos à LPS, observando aumento da expressão de iNOS na artéria aorta, mas não na artéria pulmonar. Provavelmente essa diferença de expressão de iNOS contribui para a indução de hipotensão sistêmica e hipertensão pulmonar arterial na sepse. Da mesma forma, Huang *et al.*⁴⁴ avaliou o papel do iNOS no mecanismo de hipertensão arterial no choque endotoxêmico em coelhos, e não observou efeito na resposta vasomotora da artéria pulmonar. Portanto, a iNOS aparentemente não apresenta efeito direto na hipertensão pulmonar na sepse.

Outro importante mecanismo que provavelmente contribui para a hipertensão pulmonar na sepse é o fator de agregação plaquetária (PAF), um fosfolípídeo derivado da membrana, que aumenta a resistência vascular pulmonar (RVP) pela ativação de neutrófilos e também contribui para o aumento na produção de endotelina e tromboxano. Níveis séricos elevados de PAF foram observados em pacientes sépticos e no choque endotoxêmico experimental^{36,45-48}.

Em estudo realizado por Clavijo *et al.*³⁶, a administração exógena de *Platelets Aggregation Factor* (PAF) foi capaz de induzir edema pulmonar sem causar hipertensão pulmonar. Interessantemente, a inibição da atividade da PAF durante a bacteremia com *E. coli* preveniu o

desenvolvimento de hipertensão pulmonar, bem como a formação de edema pulmonar, sugerindo que de fato o PAF contribui para a ocorrência de hipertensão pulmonar durante a sepse, mas que provavelmente o mecanismo não seja decorrente de efeito vascular direto, mas sim decorrente da estimulação de outros mediadores pelo PAF.

Diversos estudos sugerem que o PAF induz a expressão de endotelina-1, um potente peptídeo vasoconstritor endógeno produzido principalmente pelo endotélio. O aumento na concentração de endotelina está associado a um pior prognóstico na sepse⁴⁹. A endotelina aparenta estar diretamente envolvida na fisiopatologia do choque endotoxêmico. Segundo Waneceket *et al.*⁵⁰, a hipertensão pulmonar foi abolida através do tratamento com antagonista de receptor de endotelina-A em porcos submetidos ao choque séptico. Corroborando com Waneceket *et al.*⁵⁰ (1999), Snapper *et al.*³⁵ observaram que a administração de antagonista de receptor de endotelina foi capaz de reduzir a pressão da artéria pulmonar em ovelhas submetidas à endotoxemia e que este efeito está associado hipertensão pulmonar tardia do choque séptico. Já a hipertensão pulmonar inicial da endotoxemia parece estar relacionada ao aumento de tromboxano A₂³⁷.

O tromboxano, metabólito do ácido araquidônico, é um potente vasoconstritor e agregador plaquetário, produzido principalmente por plaquetas e células endoteliais⁵¹. Segundo Lambermont *et al.*³⁷, o TXA₂ é responsável pela resposta vasopressora inicial da circulação pulmonar durante a exposição de endotoxina, evidenciado pela prevenção abrupta de aumento na RVP pela infusão do inibidor de tromboxano A₂ BM-573.

3.2 Sildenafil

Sildenafil é um inibidor potente e seletivo da fosfodiesterase tipo 5 específica para o monofosfato de guanosina cíclico (GMPc). O seu mecanismo de ação é via NO liberado pelas células endoteliais que estimula a enzima guanilato-ciclase, presente no citosol, a produzir um segundo mensageiro, o GMPc. A fosfodiesterase tipo 5 hidrolisa o GMPc para a sua forma inativa, de monofosfato de guanosina. Com a inibição da fosfodiesterase tipo 5 pelo sildenafil há um aumento da concentração de GMPc no citosol da célula e através de um mecanismo complexo, o aumento intracelular de GMPc acarreta hiperpolarização da musculatura lisa e subsequente relaxamento vascular⁵²⁻⁵⁴.

As fosfodiesterases apresentam diferentes distribuições nos tecidos; e em particular, a fosfodiesterase-5 é presente abundantemente nos pulmões. O mecanismo de ação do sildenafil na hipertensão arterial pulmonar ocorre em parte pelo seu efeito vasodilatador na vasculatura pulmonar através do aumento e prolongamento dos efeitos vasculares relacionados ao NO⁵⁵. Entretanto, além do efeito vasodilatador, o sildenafil pode exercer um potencial efeito -antiproliferativo nas células musculares lisas da artéria pulmonar⁵⁶.

O sildenafil tem sido usado no tratamento da hipertensão arterial pulmonar, com redução significativa dos valores de PAP, melhora da capacidade funcional e da qualidade de vida^{9,57,58}. Em estudo inglês, no qual foram recrutados 20 pacientes com hipertensão pulmonar primária, comparou-se o emprego do sildenafil, do epoprostenol, do óxido nítrico

inalado, e do NO associado ao sildenafil⁵⁹. Neste estudo, o sildenafil reduziu em 14% a PAP e aumentou o índice cardíaco de forma semelhante ao epoprostenol, e nove entre 10 pacientes que receberam sildenafil apresentaram melhora dos sintomas. Já em maior escala, um estudo duplo-cego placebo-controlado com 278 pacientes randomizados para placebo ou sildenafil (20, 40 ou 80 mg) três vezes ao dia por 12 semanas, demonstrou uma redução significativa da PAP com todas as doses de sildenafil, assim como melhora funcional significativa⁶⁰.

Em relação à hipertensão pulmonar de origem cardiogênica, o sildenafil também tem sido indicado. Jiang *et al.*⁶¹ realizaram uma metanálise que avaliou o efeito do sildenafil na hipertensão pulmonar decorrente de insuficiência cardíaca esquerda, e observaram que o sildenafil reduziu a hipertensão pulmonar tanto na fase aguda quanto na fase crônica da doença e melhorou significativamente a qualidade de vida dos pacientes. O sildenafil também atenuou a hipertensão pulmonar pós-operatória decorrente de cirurgias cardíacas devido à doenças congênitas em crianças, no qual melhorou a relação pressão parcial de oxigênio/Fração inspirada de oxigênio (PaO_2/FiO_2), reduziu o tempo de extubação e o tempo de internação na UTI⁶².

Em modelo experimental de hipertensão pulmonar induzida por hipóxia, o sildenafil atenuou a hipóxia induzida pela hipertensão sem afetar o metabolismo de oxigênio⁶³. Na lesão pulmonar aguda, Shekerdemian *et al.*⁶⁴ observaram que o sildenafil reverteu a hipertensão pulmonar de maneira seletiva sem afetar a resistência vascular sistêmica (RVS) e a oxigenação

em suínos. Em outro estudo experimental de lesão pulmonar aguda que avaliou doses crescentes de sildenafil, foi observado redução de até 42% na pressão da artéria pulmonar⁶⁵. Ademais, o sildenafil apresentou efeito protetor na lesão pulmonar aguda em modelo experimental, diminuindo a inflamação e o estresse oxidativo nos pulmões de ratos queimados⁶⁶.

Na lesão de isquemia e reperfusão em pulmões de ratos, o pré-tratamento com sildenafil diminuiu a apoptose e a inflamação, apresentando níveis reduzidos de TNF- α e IL-6 no tecido pulmonar⁶⁷. Da mesma forma, em modelo experimental de fibrose pulmonar, o sildenafil atenuou a produção das citocinas inflamatórias TNF- α e IL-1 β ⁶⁸.

Em pulmão isolado de ratos submetidos à endotoxemia, Klein *et al.*⁶⁹ observaram que dose baixa de inibidor da fosfodiesterase 5 melhorou a resposta ao óxido nítrico inalado. Em outro modelo de sepse em ratos, observou-se que o sildenafil é um agente altamente capaz de prevenir lesão pulmonar e renal na sepse por meio da manutenção do equilíbrio oxidante-antioxidante e pela diminuição dos níveis de TNF- α ⁷⁰.

Desta forma, os efeitos benéficos do sildenafil no tratamento da hipertensão pulmonar de outras origens são bem conhecidos, porém os efeitos deste fármaco na hipertensão pulmonar decorrente do choque séptico ainda não foram completamente elucidados.

4 MÉTODOS

4.1 Local de Realização e Comitê de Ética

O estudo foi realizado no Laboratório de Investigação Médica nº 08 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), após aprovação do Protocolo de Pesquisa nº 262/13 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMUSP. Não houve auxílio financeiro de agências de fomento.

4.2 Animais

Foram utilizadas 20 fêmeas, da espécie suína, jovens, com peso entre 20 a 30 kg, provenientes de granjas de produção comercial de alto padrão sanitário e submetidas a exame clínico completo e gasometria arterial para descartar qualquer alteração que pudesse comprometer os resultados do estudo.

4.3 Protocolo Anestésico

Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas e hídrico de três horas antes do procedimento anestésico.

Todos os animais foram pré-medicados com uma associação de midazolam (0,25 mg/kg) e cetamina (5 mg/kg), pela via intramuscular. Foi realizado o acesso venoso na veia marginal da orelha com cateter 20G e a indução anestésica foi realizada utilizando-se propofol (5 mg/kg), pela via

intravenosa. Subsequentemente realizou-se a intubação com sonda endotraqueal de diâmetro adequado e os animais foram mantidos sob anestesia geral através da administração de isoflurano a 1,4% em Fração Inspirada de Oxigênio (FiO_2) de 0,4, administrado por meio de vaporizador calibrado, sendo a concentração monitorada por meio da avaliação da fração expirada do agente anestésico.

Instaurou-se então o bloqueio neuromuscular com pancurônio, na dose inicial de 0,1 mg/kg e infusão contínua de 5 μ g/kg/min. Os animais foram então posicionados em decúbito dorsal e mantidos sob ventilação mecânica controlada a volume, a qual foi ajustada inicialmente em 20 movimentos respiratórios por minuto, volume corrente de 8 mL/kg, e pressão expiratória final positiva (PEEP) de 5 cmH₂O (Primus, Dräger, Lübeck, Alemanha).

Todos os animais receberam ringer lactato a uma taxa de 5 mL/kg/h como solução de manutenção, administrada através de bomba de infusão durante todo o período experimental.

4.4 Preparo e Monitoração

Com os animais em plano anestésico adequado, realizou-se a infiltração de 5 mL de solução de lidocaína sem vasoconstritor para a dissecação da veia jugular direita para a introdução de um cateter de artéria pulmonar (7F, Baxter, Irvine, CA, EUA) acoplado ao monitor deDC. O cateter de artéria pulmonar foi preenchido com solução salina previamente heparinizada, sendo o transdutor de pressão posicionado ao nível da linha

axilar média e zerado à pressão atmosférica. Após observação da curva característica de átrio direito, procedeu a insuflação do balão com 1,5 ml de ar, continuando a introdução do cateter no VD e artéria pulmonar. O cateter foi fixado quando observou o “achatamento da curva” e, portanto, a pressão de oclusão da artéria pulmonar foi considerada.

Após a infiltração local de 5 mL de lidocaína 2% sem vasoconstrictor, foi dissecada a artéria femoral para a introdução de um cateter 5F (Pulsiocath Picco PV2015L20, Pulsion Medical Systems, München, Alemanha) para monitoração contínua da pressão arterial sistêmica e outros parâmetros associados. Para obtenção das pressões foi utilizado monitor multiparamétrico com dois canais de pressão (Viridia Modelo 885, Hewlett-Packard, Andover, MA, EUA).

A veia femoral direita foi dissecada com subsequente introdução de um cateter de polietileno nº 8 para infusão de LPS. A artéria femoral do membro contralateral foi dissecada para introdução de um cateter de polietileno nº 8 para a coleta de sangue durante o experimento.

A temperatura dos animais foi mantida entre 37°C e 38°C através de um colchão térmico.

4.5 Procedimento de Indução ao Choque Endotoxêmico

Foi utilizado infusão de uma preparação comercial de lipopolissacarídeo (LPS) (LPS de *Escherichia coli* O111:B4; Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) de bactéria gram negativa, empregada na dose de 4 µg/kg/h, administrada por infusão contínua intravenosa para induzir o choque endotoxêmico nos animais.

4.6 Parâmetros Hemodinâmicos

a) Frequência (FC) e ritmo cardíaco

A frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm), e o ritmo cardíaco, foram obtidos por meio do monitor multiparamétrico (IntelliVue MP50, Phillips, Boeblinger, Alemanha).

b) Pressão Arterial Média (PAM)

A pressão arterial foi obtida por mensuração direta e contínua com o cateter da artéria femoral acoplado ao transdutor de pressão do monitor multiparamétrico (IntelliVue MP50, Phillips, Boeblinger, Alemanha), obtendo-se desta forma a PAM.

c) Pressão Arterial Pulmonar Média (PAPM)

A aferição deste parâmetro, expresso em mmHg, foi obtido através do cateter de artéria pulmonar conectado ao monitor multiparamétrico (IntelliVue MP50, Phillips, Boeblinger, Alemanha).

d) Índice Cardíaco (IC), Índice da Resistência Vascular Sistêmica (IRVS) e Índice da Resistência Vascular Pulmonar (IRVP), Índice do Trabalho Sistólico dos Ventrículos Esquerdo (ITSVE), Índice do Trabalho Sistólico dos Ventrículos Direito (ITSVD), Índice do Volume Sistólico (IVS), Índice do Volume Diastólico Final (IVDF) e Índice do Volume Sistólico Final (IVSF)

O índice cardíaco, os índices da RVS e da RVP, o índice do trabalho sistólico dos ventrículos direito e esquerdo, e os índices do volume diastólico e sistólico final foram obtidos através do cateter de artéria pulmonar, pelo método da termodiluição, calculados automaticamente pelo monitor de DC (Vigilance II;

Edwards Lifesciences Inc., Irvine, CA, EUA). Realizou-se a medida injetando 10 mL de solução de glicose a 5% em temperatura ambiente, pelo cateter atrial. Foram realizadas três medidas consecutivas do débito, sendo desprezada aquela cujo valor fosse discrepante (maior que 10%).

e) Índice da Função Cardíaca (IFC), Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar (ICEVAP), Índice do Volume Diastólico Final Global (IVDFG), Índice do Volume Sanguíneo Intratorácico (IVSIT), Índice de Permeabilidade Vascular Pulmonar (IPVP)

Todos os índices acima foram calculados automaticamente pelo monitor multiparamétrico (IntelliVue MP50, Phillips, Boeblinger, Alemanha) após a mensuração do DC por termodiluição transpulmonar.

f) Variação da Pressão de Pulso (VPP) e Variação do Volume Sistólico (VVS)

O VPP e o VVS foram obtidos diretamente através de monitores multiparamétricos (Monitor Portal DX 2020, Dixtal Biomédica Ind. Com. Ltda., Manaus, Brasil; IntelliVue MP50, Phillips, Boeblinger, Alemanha).

4.7 Parâmetros Ventilatórios

a) Complacência Pulmonar (Cdyn), Volume Minuto (VM), Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado (EtCO₂), Pressão de Pico das Vias Aéreas (Ppico), Pressão de Platô das Vias Aéreas (Ppausa), Pressão Média das Vias Aéreas (Pmedia) e Resistência das Vias Aéreas (Res)

Tais parâmetros foram obtidos através do módulo de ventilação do aparelho de anestesia (Primus, Dräger, Lübeck, Alemanha).

4.8 Parâmetros Hemogasométricos, Eletrolíticos, de Perfusão e Oxigenação

a) *Potencial Hidrogênio Arterial (pHa), Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (PaCO₂) e Pressão Parcial de Oxigênio (PaO₂), Bicarbonato (HCO₃), Excesso de Base (EB), Potássio (K⁺), Sódio (Na⁺) e Lactato*

Para a mensuração dos parâmetros acima, foi retirada uma amostra de 1 mL de sangue arterial através do cateter fixado na artéria femoral e que foi analisada pelo analisador de gases sanguíneos (ABL 555, Radiometer, Copenhagen, Dinamarca).

b) *Saturação Venosa Mista de Oxigênio (SvO₂)*

Foi realizada a coleta de 1 mL de sangue venoso misto a partir da extremidade distal do cateter de artéria pulmonar.

c) *Índice de Oferta de Oxigênio (DO₂I), Índice de Consumo de Oxigênio (VO₂I), Taxa de Extração de Oxigênio (TeO₂)*

Estas variáveis foram calculadas manualmente a partir de fórmulas padrão demonstradas abaixo.

Índice de oferta de oxigênio $DO_2 = (CaO_2 \times IC \times 10) / \text{Superfície corpórea}$, expresso em mL/min/m².

Índice de consumo de oxigênio $VO_2 = [(CaO_2 - CvO_2) \times IC \times 10] / \text{Superfície corpórea}$, expresso em L/min/m².

Taxa de extração de oxigênio $TeO_2 = (SaO_2 - SvO_2) / SaO_2$, expresso em %.

Sendo que:

Conteúdo arterial de oxigênio $CaO_2 = (1,38 \times Hb \times SaO_2) + (0,0031 \times PaO_2)$.

Conteúdo venoso de oxigênio $CvO_2 = (1,38 \times Hb \times SvO_2) + (0,0031 \times PvO_2)$.

d) *Shunt intrapulmonar (Qs/Qt) e Gradiente alvéolo-arterial de oxigênio [$P(A - a)O_2$]*

Estas variáveis foram calculadas manualmente a partir de fórmulas padrão demonstradas abaixo.

$$Qs/Qt = (CcO_2 - CaO_2) / (CcO_2 - CvO_2)$$

$$P(A - a)O_2 = [(PB - PH_2O) \times FiO_2] - PaCO_2 \times [FiO_2 + (1 - FiO_2/0,8) - (PaO_2)]$$

Sendo que:

$$\text{Conteúdo de oxigênio no capilar pulmonar } (CcO_2) = (1,38 \times Hb \times 1) + (PAO_2 \times 0,0031)$$

$$\text{Conteúdo arterial de oxigênio } (CaO_2) = (1,38 \times Hb \times SaO_2) + (0,0031 \times PaO_2).$$

$$\text{Conteúdo venoso de oxigênio } (CvO_2) = (1,38 \times Hb \times SvO_2) + (0,0031 \times PvO_2).$$

$$\text{Pressão barométrica } (PB) = 760$$

$$\text{Pressão do vapor de água } (PH_2O) = 47 \text{ mmHg}$$

$$\text{Coeficiente respiratório} = 0,8$$

4.9 Estudo Ecodopplercardiográfico

a) *Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE), Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo (VSFVE), Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo (VDFVE) e Volume Diastólico Final do Ventrículo Direito (VDFVD)*

O estudo ecodopplercardiográfico foi realizado por um profissional habilitado, utilizando um meio de sistema de ultrassonografia com transdutor transesofágico de 7,5/5,0 MHz (En Visor CHD, Minnesota, EUA).

Os parâmetros foram calculados utilizando o método de Simpson, posicionando o transdutor na posição média do coração, o que permitiu a visualização das quatro câmaras cardíacas.

4.10 Citocinas Inflamatórias e Troponina I Cardíaca

a) *Dosagens das Interleucinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10)*

As amostras de sangue foram coletadas no início (Basal) e no término do experimento (LPS180). Para dosagem de citocinas, foram coletados 10 mL de sangue arterial em tubos com gel ativador de coágulo. As amostras foram centrifugados em centrífuga refrigerada (4°C) a 2000 rpm durante 10 minutos. As amostras de soro obtidas foram aliquotados em microtubos e, logo em seguida, armazenados em freezer - 80°C para posterior mensuração das citocinas.

As citocinas foram dosadas pelo método *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), seguindo todas as recomendações do fabricante, e utilizando pares de anticorpos monoclonais comerciais (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, EUA).

b) Troponina I cardíaca

As amostras de sangue foram coletadas no início (Basal) e no término do experimento (LPS180). Para a obtenção do soro, as amostras seguiram o mesmo padrão de centrifugação e armazenamento realizado para dosagem de citocinas.

O método empregado na dosagem da troponina I foi de imunoensaio por quimiluminescência, utilizando o conjunto diagnóstico *Immulite Turbo Troponin I* no equipamento analisador semiautomático (Immulite Analyzer-Diagnostic Products Corporation DPC), sendo o resultado expressado em ng/mL.

4.11 Análise Histopatológica

a) Coleta do tecido pulmonar

Ao término do período observacional, os animais foram eutanaziados com 10 mL de cloreto de potássio (KCl). Imediatamente após a administração de KCl, realizou-se clampeamento da traqueia ao final do último ciclo inspiratório. A cavidade torácica foi acessada por meio de toracotomia, e amostras de três regiões distintas do lobo diafragmático direito: porção intermediária, porção dependente e porção não dependente foram coletadas e fixadas em formol 10% por um período determinado. Posteriormente, as lâminas foram preparadas e coradas com hematoxilina-eosina para análise em microscopia óptica.

b) Avaliação Histopatológica

A avaliação histopatológica foi realizada por um patologista veterinário, sem conhecimento dos grupos de estudo. O objetivo desta avaliação foi constatar os danos pulmonares induzidos pelo modelo proposto de choque endotoxêmico, bem como observar possíveis diferenças induzidas pela administração de sildenafil.

A avaliação foi composta pelo escore proposto por Krebs *et al.*⁷¹, cujos parâmetros avaliados foram: atelectasia, hiperinsuflação pulmonar, inflamação, edema e hemorragia (Quadro 1).

Quadro 1 -Escore de avaliação da histopatologia do tecido pulmonar⁷¹

Avaliação histológica do parênquima pulmonar	
Atelectasia	
0	< 10% de atelectasia alveolar
1	> 10% de atelectasia alveolar
2	> 25% de atelectasia alveolar
3	> 50% de atelectasia alveolar, com septos alveolares com distinções.
4	> 75% de atelectasia, com septos alveolares sem distinções.
Hiperinsuflação alveolar	
0	Ausente
1	Múltiplos alvéolos com o dobro do diâmetro do parênquima adjacente
2	Múltiplos alvéolos com quatro vezes o diâmetro do parênquima adjacente
3	Múltiplos alvéolos com oito vezes o diâmetro do parênquima adjacente
4	Múltiplos alvéolos > oito vezes o diâmetro do parênquima adjacente
Inflamação	
Os leucócitos foram contados (aumento de 400x) nos focos com infiltrado inflamatório em três áreas escolhidas aleatoriamente no campo de visão (aumento de 100x)	
0	≤ 10 leucócitos
1	10 - 20 leucócitos
2	20 - 30 leucócitos
3	30 - 40 leucócitos
4	> 40 leucócitos
Edema	
Avaliação do edema alveolar, perivascular, e intersticial	
0	Ausente
1	Discreto
2	Médio
3	Abundante
4	Generalizado
Hemorragia	
0	Ausente, ou < 10 eritrócitos extravascular por campo de visão
1	Eritrócito único (> 10) extravascular/intraalveolar por campo de visão
2	Eritrócitos extravascular/intraalveolar em múltiplas localizações
3	Extravazamento por ruptura de vaso
4	Eritrócitos extravascular em mais de 50% do campo de visão

4.12 Determinação de Grupos, Dose, Coletas e Delineamento Experimental

Todos os animais foram previamente randomizados e alocados em dois grupos: Controle e Sildenafil. Foi empregado o método simples de randomização, realizada através de sorteio. Este foi um estudo cego, no qual o avaliador não sabia se estava sendo administrado sildenafil ou solução fisiológica a 0,9% em volume correspondente.

A dose de sildenafil empregada foi baseada em estudos pilotos, no qual foram administradas doses crescentes de sildenafil (20, 40, 80 e 100 mg) até observar atenuação da hipertensão pulmonar induzida pelo LPS, objetivou-se obter valores de PAPM abaixo de 40 mmHg, que foi possível com a dose de 100 mg. Neste estudo, considerou-se hipertensão pulmonar valores de PAPM superiores a 25 mmHg.

Após a indução da anestesia e preparo do animal, foram coletados os dados basais (Basal). Uma amostra de sangue arterial e venoso misto foi obtida para análise dos gases sanguíneos, obteve-se também uma amostra de sangue para dosagem de citocinas e troponina sérica.

Em seguida, no grupo Sildenafil, administrou-se citrato de sildenafil (Viagra® 100 mg, Pfizer), na dose total de 100 mg, diluído em 20 mL de solução fisiológica 0,9% e administrado através de sonda esofágica. No grupo Controle, foi administrado 20 mL de solução fisiológica 0,9%, também administrado por sonda esofágica.

O choque endotoxêmico foi induzido após 30 minutos da administração do sildenafil/salina através da administração de LPS (LPS0), na dose de 4 mcg/kg/min, até o final do experimento, totalizando 180

minutos de infusão. Durante este período de infusão, os parâmetros hemodinâmicos, respiratórios, de oxigenação foram avaliados 30 (LPS30), 60 (LPS60), 90 (LPS90), 120 (LPS120), 150 (LPS150) e 180 (LPS180) minutos após o início da mesma. O estudo ecodopplercardiográfico foi realizado nos seguintes momentos: Basal, LPS0, LPS30, LPS60, LPS120 e LPS180.

A coleta de sangue para dosagem de citocinas e troponina I foi realizada após a estabilização do paciente (Basal) e no término do experimento (LPS180) (Figura 1).

Ao final do experimento os animais foram submetidos à sobredose de anestesia inalatória e foi realizada a eutanásia com administração de cloreto de potássio intravenoso. Foram coletadas amostras de tecido pulmonar para histopatologia, e em seguida os corpos foram destinados à incineração conforme procedimento padrão da FMUSP.

Figura 1 - Delineamento do estudo; Basal = 30 minutos após a anestesia e preparo; LPS0 = imediatamente antes do início da infusão de LPS; LPS30 = 30 minutos após a administração do LPS; LPS60 = 60 minutos após a administração do LPS; LPS90 = 90 minutos após a administração do LPS; LPS120 = 120 minutos após a administração do LPS; LPS150 = 150 minutos após a administração do LPS; LPS180 = 180 minutos após a administração de LPS; círculos pretos = momentos de avaliação dos parâmetros hemodinâmicos, respiratórios e de oxigenação; triângulos pretos = coleta de sangue para mensuração de citocinas séricas e troponina; quadrados pretos = estudo ecodopplercardiográfico

4.13 Análise Estatística

O peso dos animais foi avaliado através do teste T de *student* não pareado. Os resultados hemodinâmicos, ventilatórios, hemogasométricos, eletrolíticos e de oxigenação e perfusão obtidos nos diferentes tempos e grupos foram confrontados estatisticamente por meio de provas paramétricas, empregando-se a análise de variância de duas vias para medidas repetidas [análise da variância (ANOVA)]. O teste de *Tukey* foi utilizado na ocorrência de diferença estatística significativa, para comparações múltiplas.

Os dados referentes ao estudo ecodopplercardiográfico, à concentração sérica de citocinas e marcadores cardíacos também foram analisados através da análise de variância de duas vias para medidas repetidas e pós-teste de *Tukey*. Já os escores obtidos na avaliação histopatológica foram confrontados através do teste não paramétrico *Mann-Whitney*.

O grau de significância estabelecido foi de 5% ($p < 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados por meio do software SigmaPlot11.0 (Systat Software, San Jose, EUA).

O número de animais utilizados neste estudo foi determinado utilizando-se como base estudos experimentais em suínos, cujos fatores financeiros e éticos justificam a não utilização de grande amostragem.

5 RESULTADOS

5.1 Peso dos Animais

O peso médio dos animais, com seu respectivo desvio-padrão, foi de $24,5 \pm 2,7$ kg para o grupo Controle e de $22,8 \pm 2,1$ kg para o grupo Sildenafil.

Não houve diferença significativa entre os grupos ($p = 0,1326$).

5.2 Parâmetros Hemodinâmicos

A Tabela 1 contém os resultados referentes às alterações hemodinâmicas desde o tempo basal até o término do período experimental.

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hemodinâmicos dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL)

	Basal	LPS					ANOVA		
		LPS0	LPS30	LPS60	LPS90	LPS120		LPS150	LPS180
FC (bpm)									
CTL	105 ± 18	108 ± 16	121 ± 12	121 ± 14 [†]	126 ± 19 [†]	138 ± 26 [†]	154 ± 28 [†]	163 ± 26 [†]	P1 = 0,605
SIL	112 ± 25	120 ± 27	117 ± 30	128 ± 24 [†]	132 ± 15 [†]	143 ± 16 [†]	155 ± 19 [†]	165 ± 26 [†]	P2 < 0,001
PAM (mmHg)									
CTL	70 ± 9	76 ± 7	92 ± 9 [†]	72 ± 8	67 ± 7	64 ± 6	65 ± 10	66 ± 13	P3 = 0,560
SIL	69 ± 8	63 ± 6*	81 ± 6**	59 ± 9**	57 ± 8**	55 ± 10**	57 ± 11 [†]	58 ± 9**	P1 = 0,08
PAPM (mmHg)									
CTL	19 ± 2	20 ± 2	52 ± 4 [†]	27 ± 3 [†]	28 ± 3 [†]	32 ± 6 [†]	37 ± 6 [†]	40 ± 6 [†]	P2 < 0,001
SIL	19 ± 2	18 ± 2	35 ± 4**	21 ± 3*	22 ± 2*	22 ± 2*	25 ± 4**	27 ± 5**	P3 < 0,001
PVC (mmHg)									
CTL	10 ± 2	10 ± 1	13 ± 2 [†]	10 ± 1	10 ± 1	10 ± 2	10 ± 2	10 ± 1	P1 = 0,160
SIL	10 ± 1	9 ± 2	11 ± 1 [†]	10 ± 2	10 ± 3	9 ± 2	9 ± 2	9 ± 2	P2 < 0,001
IC (L/min/m²)									
CTL	4,1 ± 0,8	4,5 ± 1,0	3,8 ± 0,9	5,2 ± 0,8 [†]	5,3 ± 0,8 [†]	5,2 ± 0,7 [†]	4,8 ± 0,8 [†]	4,3 ± 0,8	P3 = 0,181
SIL	4,1 ± 0,8	4,5 ± 0,6	4,4 ± 0,8	5,1 ± 0,9 [†]	5,5 ± 0,9 [†]	5,3 ± 0,8 [†]	4,8 ± 0,6 [†]	4,7 ± 0,6	P = 0,586
IRVS (dina-seg/cm⁻⁵/m²)									
CTL	1243 ± 328	1237 ± 322	1780 ± 561 [†]	958 ± 166 [†]	863 ± 164 [†]	848 ± 150 [†]	929 ± 185 [†]	1065 ± 293	P2 < 0,001
SIL	1209 ± 280	969 ± 189 [*]	1282 ± 234*	786 ± 116 [†]	692 ± 124 [†]	708 ± 118 [†]	814 ± 168 [†]	843 ± 163**	P3 = 0,019
IRVP (dina-seg/cm⁻⁵/m²)									
CTL	159 ± 24	152 ± 40	904 ± 292 [†]	253 ± 54	237 ± 59	318 ± 107 [†]	414 ± 111 [†]	528 ± 144 [†]	P1 < 0,001
SIL	150 ± 30	128 ± 37	438 ± 126**	157 ± 33*	171 ± 44	179 ± 46*	245 ± 73*	288 ± 116**	P2 < 0,001
ITSVE (g/m²/batimento)									
CTL	32 ± 8	37 ± 8	35 ± 9	36 ± 7	32 ± 7	27 ± 7	23 ± 9 [†]	21 ± 7 [†]	P3 < 0,001
SIL	29 ± 6	34 ± 21	35 ± 10	29 ± 12	27 ± 10	24 ± 12	20 ± 9 [†]	20 ± 7 [†]	P1 = 0,308
									P2 < 0,001
									P3 = 0,811

Continua

Basal		LPS						ANOVA	
		LPS0	LPS30	LPS60	LPS90	LPS120	LPS150		LPS180
ITSVD (g/m²/batimento)									
CTL	5 ± 2	6 ± 2	17 ± 4†	10 ± 2†	10 ± 2†	11 ± 3†	12 ± 4†	12 ± 5†	P1 < 0,001
SIL	5 ± 1	6 ± 3	13 ± 4†*	6 ± 2*	7 ± 2*	7 ± 3*	7 ± 2*	7 ± 2*	P2 < 0,001 P3 = 0,002
IVDF (mL/m²)									
CTL	147 ± 27	144 ± 32	152 ± 30	145 ± 24	150 ± 29	137 ± 25	129 ± 24	121 ± 24	P1 = 0,399 P2 = 0,360
SIL	140 ± 33	143 ± 31	154 ± 37	149 ± 29	166 ± 44	168 ± 66	154 ± 72	151 ± 92	P3 = 0,325
IVSF (mL/m²)									
CTL	101 ± 29	90 ± 30	106 ± 24	103 ± 18	106 ± 25	96 ± 19	92 ± 13	93 ± 18	P1 = 0,428 P2 = 0,804
SIL	100 ± 26	100 ± 26	106 ± 31	110 ± 20	114 ± 43	125 ± 70	114 ± 74	113 ± 91	P3 = 0,574
IVS (mL/m²)									
CTL	40 ± 8	42 ± 8	32 ± 8	44 ± 7	43 ± 8	39 ± 10	32 ± 9	28 ± 9	P1 = 0,810 P2 < 0,001
SIL	38 ± 8	48 ± 30	39 ± 10	42 ± 12	42 ± 10	38 ±	32 ± 6	30 ± 7	P3 = 0,587
VPP (%)									
CTL	11,0 ± 3,4	9,3 ± 2,2	6,9 ± 4,2	7,6 ± 2,1	8,1 ± 2,1	10,3 ± 3,9	12,0 ± 5,6	11,4 ± 5,6	P1 = 0,067 P2 < 0,001
SIL	11,0 ± 5,3	11,3 ± 4,8	6,6 ± 1,7	10,8 ± 4,0	11,7 ± 3,5	14,3 ± 5,6	17,8 ± 8,7*	16,5 ± 4,9*	P3 = 0,037
VVS (%)									
CTL	11 ± 4	11 ± 3	19 ± 6†	8 ± 2	8 ± 2	11 ± 5	9 ± 2	10 ± 4	P1 = 0,288 P2 < 0,001
SIL	12 ± 5	9 ± 3	10 ± 6*	9 ± 4*	8 ± 3	10 ± 4	12 ± 4*	12 ± 4*	P3 < 0,001
IFC									
CTL	8 ± 1	9 ± 2	8 ± 2	10 ± 2†	11 ± 1†	11 ± 2†	11 ± 1†	11 ± 1†	P1 = 0,428 P2 < 0,001
SIL	9 ± 1	10 ± 1	9 ± 2	10 ± 2†	11 ± 2†	11 ± 2†	12 ± 2†	12 ± 2†	P3 = 0,509
ICEVAP (mL/kg)									
CTL	10,5 ± 1,1	11,4 ± 0,8	12,0 ± 2,1	12,2 ± 2,0†	12,5 ± 1,1†	12,6 ± 1,7†	12,0 ± 1,5†	12,0 ± 1,1†	P1 = 0,393 P2 < 0,001
SIL	11,4 ± 1,7	12,2 ± 1,7	11,7 ± 1,7	12,6 ± 2,4†	13,0 ± 1,8†	13,3 ± 1,8†	12,5 ± 1,7†	12,4 ± 1,7†	P3 = 0,760
Continua									

		Conclusão						
		ANOVA						
Basal		LPS						
		LPS0	LPS30	LPS60	LPS90	LPS120	LPS150	LPS180
IVSIT (mL/m ²)								
CTL	605 ± 75	605 ± 109	615 ± 61	658 ± 159	595 ± 129	537 ± 54	522 ± 152 [†]	462 ± 76 [†]
SIL	577 ± 69	591 ± 94	623 ± 121	608 ± 83	563 ± 59	565 ± 159	488 ± 110 [†]	464 ± 60 [†]
IVDFG (mL/m ²)								
CTL	484 ± 60	484 ± 87	492 ± 49	527 ± 128	477 ± 103	430 ± 43	418 ± 121 [†]	370 ± 61 [†]
SIL	462 ± 56	474 ± 76	499 ± 97	487 ± 67	451 ± 47	453 ± 127	391 ± 88 [†]	372 ± 47 [†]
IPVP								
CTL	2,8 ± 0,4	3,1 ± 0,5	3,2 ± 0,5	3,3 ± 0,7	3,6 ± 0,6 [†]	3,8 ± 0,6 [†]	3,9 ± 0,8 [†]	4,2 ± 0,7 [†]
SIL	3,1 ± 0,3	3,3 ± 0,5	2,9 ± 0,4	3,3 ± 0,8	3,6 ± 0,6 [†]	4,0 ± 0,6 [†]	4,2 ± 0,9 [†]	4,3 ± 0,6 [†]

FC = Frequência cardíaca; PAS = Pressão Arterial Sistólica; PAM = Pressão Arterial Média; PAD = Pressão Arterial Diastólica; PAPS = Pressão Arterial Pulmonar Sistólica; PAPD = Pressão Arterial Pulmonar Diastólica; PAPM = Pressão Arterial Pulmonar Média; POAP = Pressão de Oclusão da Artéria Pulmonar/ PVC = Pressão Venosa Central; IC = Índice cardíaco; IRVS = Índice da Resistência Vascular Sistêmica; IRVP = Índice da Resistência Vascular Pulmonar; ITSVE = Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Esquerdo; ITSVD = Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Direito; IVDF = Índice do Volume Diastólico Final; IVSF = Índice do Volume Sistólico Final; IVS = Índice do Volume Sistólico; VPP = Variação da Pressão de Pulso; VVS = Variação do Volume Sistólico; IFC = Índice da Função cardíaca; ICEVAP = Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar; IVSIT = Índice de Volume Sanguíneo Intratorácico; IVDFG = Índice de Volume Diastólico Final Global; IPVP = Índice de Permeabilidade Vascular Pulmonar. † Indica valor diferente do momento Basal (p<0,05). * indica valor diferente do grupo Controle (p<0,05). P1 = fator tempo; P2 = fator grupo; P3 = interação grupo x tempo.

a) Frequência Cardíaca

Os valores de frequência cardíaca aumentaram significativamente aos 60 minutos após a infusão de LPS e mantiveram aumentados durante todo o experimento em ambos os grupos (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

b) Pressão Arterial Média

A pressão arterial média aumentou significativamente aos 30 minutos após a infusão de LPS em ambos os grupos, apresentando subsequente redução significativa após uma hora de infusão de LPS no grupo Sildenafil, permanecendo reduzido até o final do experimento.

Os valores médios de PAM do grupo Sildenafil nos momentos LPS0, LPS30, LPS60, LPS90, LPS120 e LPS180 diferiram significativamente do grupo Controle, com valores menores que podem ser observados na Gráfico 2.

Gráfico 2 - Valores médios e desvio padrão da pressão arterial média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

[†]Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

c) Pressão Arterial Pulmonar Média

A pressão arterial pulmonar média apresentou aumento significativo aos 30 minutos após a infusão do LPS em ambos os grupos, e no grupo Controle manteve os valores aumentados até o final do experimento. Já no grupo Sildenafil, ocorreu um novo aumento significativo dos valores nos momentos LPS150 e LPS180.

Os valores médios de PAMP do grupo Sildenafil diferiram significativamente do Controle durante todo o experimento, apresentando valores médios menores quando comparados com o grupo Controle, como pode ser observado na Gráfico 3.

Gráfico 3 - Valores médios e desvio padrão da pressão da artéria pulmonar média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

[†]Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

^{*}Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

d) Pressão Venosa Central (PVC)

Em relação a PVC, ocorreu um aumento significativo dos valores médios em ambos os grupos 30 minutos após a infusão de LPS, e não houve diferença significativa entre os grupos (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Valores médios e desvio padrão da pressão venosa central (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

e) *Índice Cardíaco, Índice da Resistência Vascular Sistêmica e Índice da Resistência Vascular Pulmonar*

O índice cardíaco aumentou significativamente em ambos os grupos nos momentos LPS60, LPS90, LPS120 e LPS150 (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Valores médios e desvio padrão do índice cardíaco (L/min/m²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

Os valores de índice de resistência vascular sistêmica no grupo Controle aumentaram significativamente aos 30 minutos da infusão de LPS, porém ocorreu uma diminuição significativa dos valores, quando comparado ao Basal, nos momentos LPS60, LPS90, LPS120 e LPS150. Já no grupo Sildenafil, ocorreu uma redução significativa dos valores médios de IRVS aos 60 minutos de infusão de LPS, e permaneceu diminuído até o final do experimento.

Ademais, os valores de IRVS do grupo Sildenafil diferiram do grupo Controle nos momentos LPS0, LPS30 e LPS180, apresentando valores médios significativamente menores do que o Controle, que podem ser observados na Gráfico 6.

Gráfico 6 - Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular sistêmica (dina-seg/cm⁵/m²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal (p<0,05)

Em relação aos índices de RVP, ocorreu aumento significativo em ambos os grupos aos 30 minutos de infusão de LPS e três horas após o início da infusão de LPS. Contudo, no grupo Controle também houve aumento significativo nos momentos LPS120 e LPS150.

Observou-se também diferença entre os grupos nos momentos LPS30, LPS60, LPS120, LPS150 e LPS180, no qual os valores médios de IRVP no grupo Sildenafil foram significativamente menores do que o Controle (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular pulmonar (dina-seg/cm⁵/m²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal (p<0,05)

*Significativamente diferente do grupo Controle (p<0,05)

f) Índice do Trabalho Sistólico dos Ventrículos Esquerdo e Direito

Uma redução significativa do ITSVE foi observada em ambos os grupos nos momentos LPS150 e LPS180. Em relação ao ITSVD, ocorreu aumento significativo em ambos os grupos aos 30 minutos de infusão de LPS, sendo que os valores permaneceram elevados no grupo Controle durante todo o experimento.

Ademais, foi observada diferença entre os grupos, no qual os valores de ITSVD foram significativamente menores no grupo Sildenafil a partir dos 30 minutos de infusão de LPS e permaneceram reduzidos durante todo o experimento, como pode ser visualizado no Gráfico 8.

Gráfico 8 - Valores médios e desvio padrão do índice do trabalho sistólico do ventrículo esquerdo e direito ($\text{g}/\text{m}^2/\text{batimento}$) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

g) Índice do Volume Sistólico, Índice do Volume Diastólico e Sistólico Final

Os valores médios de IVS diminuíram significativamente em ambos os grupos ao final do experimento. Já os valores de IVDF e IVSF não apresentaram nenhuma diferença estatisticamente significativa, seja entre tempos ou entre grupos.

h) Variação da Pressão de Pulso e Variação do Volume Sistólico

Aumento estatístico significativo nos valores de VPP foi observado no grupo Sildenafil nos momentos LPS150 e LPS180, no qual diferiram do momento Basal e também do grupo Controle.

Em relação aos valores de VVS, no momento LPS30 foi observado aumento significativo no grupo Controle em relação ao momento Basal. Já no grupo Sildenafil, não houve diferença significativa entre os tempos, porém houve diferença significativa dos valores nos momentos LPS30, LPS60, LPS150 e LPS180 ao serem comparados com o grupo Controle (Gráfico 9).

Gráfico 9 - Valores médios e desvio padrão do índice da variação da pressão de pulso e da variação do volume sistólico (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

i) Índice da Função Cardíaca, Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar, Índice do Volume Diastólico Final Global, Índice do Volume Sanguíneo Intratorácico, Índice de Permeabilidade Vascular Pulmonar

Os valores médios de IFC e ICEVAP, de ambos os grupos, aumentaram significativamente aos 60 minutos de infusão de LPS e permaneceram aumentados durante todo o experimento.

Em relação aos valores de IVSIT e IVDFG, ambos os grupos apresentaram redução significativa dos valores médios ao final do experimento, nos momentos LPS150 e LPS180. Já os valores de IPVP apresentaram aumento significativo em ambos os grupos aos 90 minutos de infusão de LPS e permaneceram aumentados até o final do experimento (Gráfico 10).

Gráfico 10 - Valores médios e desvio padrão do índice do conteúdo extravascular de água pulmonar (mL/kg), índice do volume sanguíneo intratorácico (mL/m²), índice de volume diastólico final global (mL/m²) e índice de permeabilidade vascular pulmonar dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal (p<0,05)

5.3 Parâmetros Ventilatórios

A Tabela 2 contém as informações relativas às alterações ventilatórias desde o momento Basal até o final do experimento

Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros ventilatórios dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL)

	Basal	LPS						ANOVA	
		LPS0	LPS30	LPS60	LPS90	LPS120	LPS150		LPS180
ETCO ₂ (mmHg)									
CTL	42 ± 3	42 ± 2	40 ± 3	45 ± 3 [†]	46 ± 4 [†]	47 ± 5 [†]	47 ± 6 [†]	46 ± 5 [†]	P1=0,352
SIL	43 ± 6	41 ± 6	41 ± 5	42 ± 4	43 ± 4	44 ± 4	43 ± 4	44 ± 4	P2 < 0,001
VM (L/min)									
CTL	5,1 ± 0,8	5,2 ± 1,0	5,1 ± 1,0	5,1 ± 1,1	5,1 ± 1,1	5,1 ± 1,0	5,1 ± 1,0	5,2 ± 1,1	P3 < 0,001
SIL	4,5 ± 0,6	4,8±0,5	4,8 ± 0,3	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,3	4,8 ± 0,2	4,8 ± 0,2	4,8 ± 0,2	P1 = 0,347
Cdyn (mL/cmH ₂ O)									
CTL	20,3 ± 2,3	20,4 ± 2,5	16,4 ± 1,8 [†]	18,4 ± 2,1 [†]	18,0 ± 2,3 [†]	16,5 ± 2,0 [†]	15,3 ± 1,5 [†]	14,7 ± 1,0 [†]	P2 = 0,058
SIL	21,3 ± 3,3	21,4 ± 3,7	18,6 ± 3,6 [†]	19,4 ± 3,6 [†]	19,0 ± 4,0 [†]	17,9 ± 3,5 [†]	17,0 ± 3,6 [†]	16,5 ± 3,8 [†]	P3 = 0,149
Res (cmH ₂ O/L/seg)									
CTL	8,8 ± 2,9	7,6 ± 1,2	8,1 ± 1,0	7,6 ± 1,0	8,3 ± 3,4	8,4 ± 3,7	8,7 ± 3,9	8,6 ± 3,5	P1 = 0,253
SIL	7,5 ± 1,1	6,9 ± 0,7	7,4 ± 1,1	7,4 ± 1,1	7,5 ± 1,0	7,5 ± 1,0	7,4 ± 1,2	7,6 ± 1,6	P2 = 0,584
Ppico (mmHg)									
CTL	17 ± 1	17 ± 1	19 ± 2 [†]	18 ± 2 [†]	18 ± 2 [†]	19 ± 2 [†]	20 ± 2 [†]	20 ± 2 [†]	P3 = 0,972
SIL	15 ± 2	15 ± 2	16 ± 2 [†]	16 ± 2 [†]	16 ± 2 [†]	17 ± 2 [†]	17 ± 2 [†]	18 ± 3 [†]	P1 = 0,016
Ppausa (mmHg)									
CTL	16 ± 1	16 ± 1	19 ± 2 [†]	17 ± 2	17 ± 2	19 ± 2 [†]	20 ± 2 [†]	20 ± 2 [†]	P2 < 0,001
SIL	14 ± 2	15 ± 1	15 ± 2 [†]	15 ± 3	16 ± 2	16 ± 2 [†]	17 ± 3 [†]	17 ± 3 [†]	P3 = 0,097
Pmedia (mmHg)									
CTL	8 ± 0	8 ± 0	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 1	9 ± 1	9 ± 1	P1 = 0,111
SIL	7 ± 1	7 ± 1	7 ± 1	7 ± 1	9 ± 3	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 1	P2 = 0,032
									P3 = 0,295

ETCO₂ = Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado; VM = Volume minuto; Cdyn = Complacência Dinâmica; Res = Resistência das Vias Aéreas; Ppico = Pressão de Pico das Vias Aéreas; Ppausa = Pressão de Platô das Vias Aéreas; Pmedia = Pressão Média das Vias Aéreas. † indica valor diferente do momento Basal (p<0,05), P1 = fator grupo; P2 = fator tempo; P3 = Interação grupo x tempo.

a) Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado

Os valores de EtCO₂ do grupo Controle apresentaram aumento significativo aos 60 minutos após a infusão de LPS e permaneceram aumentados até o final do experimento. Contudo, não houve diferença significativa entre os grupos (Gráfico 11).

Gráfico 11 - Valores médios e desvio padrão da pressão parcial de dióxido de carbono expirado (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

b) Volume Minuto, Complacência Pulmonar, e Resistência das Vias Aéreas

Os valores médios de VM e Res não apresentaram diferença estatisticamente significativa, seja entre tempos ou entre grupos.

Em relação a complacência pulmonar, em ambos os grupos ocorreu uma diminuição significativa dos valores aos 30 minutos de infusão, permanecendo reduzidos até o final do experimento (Gráfico 12).

Gráfico 12 - Valores médios e desvio padrão da complacência dinâmica (mL/cmH₂O) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal (p<0,05)

c) Pressão de Pico das Vias Aéreas, Pressão de Platô das Vias Aéreas e Pressão Média das Vias Aéreas

Os valores médios de pressão de pico apresentaram um aumento significativo de seus valores em ambos os grupos, sendo esta ocorrência observada aos 30 minutos da infusão de LPS até o término do procedimento experimental. Em relação à pressão de pausa, ocorreu um aumento significativo em ambos os grupos no momento LPS30, LPS120, LPS150 e LPS180. Já os valores de pressão média das vias aéreas não apresentaram nenhuma diferença estatisticamente significativa, seja entre tempos ou entre grupos (Gráfico 13)

Gráfico 13 - Valores médios e desvio padrão da pressão de pico e da pressão de platô das vias aéreas (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

5.4 Parâmetros Hemogasométricos, Eletrolíticos, de Perfusão e Oxigenação

A Tabela 3 contém os resultados referentes às alterações dos gases sanguíneos e eletrólitos e a Tabela 4 contém os resultados dos parâmetros de oxigenação e perfusão.

Tabela 3 - **Valores médios e desvio padrão dos gases sanguíneos e eletrólitos dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL)**

	Basal		LPS				ANOVA	
	LPS0	LPS30	LPS60	LPS90	LPS120	LPS150	LPS180	
pHa								
CTL	7,374 ± 0,038	7,384 ± 0,035	7,392 ± 0,03†	7,345 ± 0,052	7,330 ± 0,056†	7,319 ± 0,05†	7,315 ± 0,055†	P1 = 0,470
SIL	7,366 ± 0,046	7,388 ± 0,053	7,391 ± 0,044†	7,369 ± 0,04	7,356 ± 0,044†	7,341 ± 0,046†	7,332 ± 0,047†	P2 < 0,001
PaCO₂ (mmHg)								
CTL	44,7 ± 5	43,5 ± 4,3	44,4 ± 5,3	49,1 ± 6,7†	49,5 ± 5,8†	51,2 ± 7,6†	50,9 ± 7†	P3 = 0,056
SIL	44,0 ± 5,9	41,5 ± 6	42,9 ± 5,8	44,5 ± 4,4†	45,6 ± 6,3†	46,0 ± 6†	46,6 ± 5,6†	P1 = 0,194
PaO₂ (mmHg)								
CTL	164,3 ± 11,6	160,5 ± 12,7	147,5 ± 28,3†	153,1 ± 12,7	146,2 ± 16,6†	139,3 ± 19,2†	133,5 ± 19,7†	P2 < 0,001
SIL	161,9 ± 10,4	156,7 ± 13,4	164,1 ± 13,4	152,1 ± 11,6	152,0 ± 11,4	151,6 ± 10,1	148,2 ± 13,1†	P3 < 0,001
HCO₃ (mmol/L)								
CTL	25,2 ± 3,2	25,2 ± 3,4	26,2 ± 3,3†	25,6 ± 3,2	24,9 ± 2,7	25,1 ± 3,4	24,7 ± 3,7	P1 = 0,562
SIL	24,3 ± 1,8	24,3 ± 3,3	25,4 ± 2,8†	25,0 ± 2,3	24,7 ± 2,6	24,0 ± 2,4	23,8 ± 2,8	P2 < 0,001
Lactato (mmol/L)								
CTL	1,8 ± 0,6	1,7 ± 0,5	1,6 ± 0,4	2,1 ± 0,5	2,4 ± 0,7†	2,7 ± 0,8†	2,8 ± 0,8†	P3 = 0,905
SIL	2 ± 1,0	1,89 ± 0,9	1,84 ± 0,7	2,21 ± 0,7	2,55 ± 0,7†	2,94 ± 1,1†	3,25 ± 1,3†	P1 = 0,427
EB (mEq/mL)								
CTL	0,5 ± 2,9	0,6 ± 3,2	1,6 ± 2,8	0,2 ± 3,0	-0,7 ± 3,0	-0,9 ± 3,3†	-1,2 ± 3,8†	P2 < 0,001
SIL	-0,5 ± 1,8	-0,1 ± 3,3	0,7 ± 2,6	-0,1 ± 2,3	-0,6 ± 2,4	-1,4 ± 2,4†	-1,8 ± 2,8†	P3 = 0,635
Na⁺								
CTL	139 ± 1,6	139 ± 1,1	139 ± 1,2†	138 ± 1,1	138 ± 2,4†	138 ± 2,8	138 ± 1,8†	P1 = 0,120
SIL	142 ± 2,2	140 ± 2,5	139 ± 3,3†	140 ± 3	140 ± 3,5†	140 ± 2,4	139 ± 3,1†	P2 < 0,001
K⁺ (mmol/L)								
CTL	3,8 ± 0,1	4,0 ± 0,3†	4,1 ± 0,3†	4,1 ± 0,3†	4,1 ± 0,3†	4,1 ± 0,3†	4,4 ± 0,3†	P3 = 0,116
SIL	3,6 ± 0,4	4,0 ± 0,2†	4,0 ± 0,2†	4,0 ± 0,5†	4,0 ± 0,5†	4,1 ± 0,5†	4,3 ± 0,5†	P1 = 0,641
SvO₂ (%)								
CTL	73,1 ± 3,9	75,7 ± 3,3	70,4 ± 8,2	80,4 ± 3,2†	80,4 ± 2,5†	80,4 ± 5,7†	76,6 ± 7,2†	P2 < 0,001
SIL	74,8 ± 3,1	77,0 ± 6,2	80,1 ± 4,5†	83,5 ± 2,6†	82,1 ± 3,8†	80,1 ± 4,6	79,0 ± 5,3	P3 = 0,008

pHa = pH Arterial; PaCO₂ = Pressão Parcial de CO₂ Arterial; PaO₂ = Pressão Parcial de O₂ Arterial/ HCO₃ = Bicarbonato; EB = Excesso de Base; Na⁺ = Sódio; K⁺ = Potássio; SvO₂ = Saturação Venosa Mista. † indica valor diferente do momento Basal (p<0,05). * indica valor diferente do grupo Controle (p<0,05), P1 = fator grupo; P2 = fator tempo; P3 = interação grupo x tempo.

Tabela 4 -) Valores médios e desvio padrão dos parâmetros de oxigenação e perfusão dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL)

	Basal		LPS					ANOVA
	LPS0	LPS30	LPS60	LPS90	LPS120	LPS150	LPS180	
Ht (%)								P1 = 0,258
CTL	27,2 ± 2,4	26,9 ± 2,6	28,2 ± 2,4	29,1 ± 2,9	30,6 ± 2,6†	32,1 ± 2,8†	33,9 ± 2,3†	P2 < 0,001
SIL	28,4 ± 3,0	26,2 ± 3,5	27,1 ± 2,5	27,9 ± 3,0	28,9 ± 2,0	30,7 ± 1,8†	31,7 ± 3,0†	P3 = 0,047
DO ₂ l (mL/min/m ²)								P1 = 0,952
CTL	483,8 ± 85,2	531,0 ± 103,3	468,6 ± 124,4	667,1 ± 77,3*	710,6 ± 56,7*	679,0 ± 133,0†	643,4 ± 126,8†	P2 < 0,001
SIL	510,6 ± 102,1	515,7 ± 69,6	528,2 ± 106,4	629,3 ± 103,7†	698,7 ± 120,1†	649,3 ± 107,5†	656,4 ± 127,3†	P3 = 0,648
VO ₂ l (mL/min/m ²)								P1 = 0,027
CTL	125,5 ± 22,1	122,4 ± 11,6	128,9 ± 33,3	129,8 ± 19,0	131,6 ± 20,6	126,4 ± 41,0	134,9 ± 22,9	P2 = 0,226
SIL	124,6 ± 26,1	112,7 ± 23,8	99,1 ± 18,6	114,0 ± 18,8	107,9 ± 17,2	118,8 ± 9,7	126,9 ± 19,4	P3 = 0,317
TeO ₂ (%)								P1 = 0,084
CTL	26 ± 4	24 ± 3	29 ± 8	20 ± 3†	19 ± 3†	18 ± 5†	22 ± 7	P2 < 0,001
SIL	25 ± 3	22 ± 6	19 ± 4*	19 ± 5*	16 ± 3*	19 ± 5*	20 ± 5	P3 = 0,009
Qs/Qt								P1 = 0,038
CTL	21 ± 4	23 ± 4	20 ± 4	25 ± 3†	26 ± 4†	25 ± 1†	24 ± 4	P2 < 0,001
SIL	21 ± 3	25 ± 5†	27 ± 3*	27 ± 4†	30 ± 4†*	26 ± 3†	25 ± 3	P3 = 0,011
P(A-a)O ₂								P1 = 0,781
CTL	70 ± 14	77 ± 13	86 ± 30†	76 ± 10	82 ± 16	86 ± 20†	92 ± 24†	P2 < 0,001
SIL	73 ± 13	81 ± 14	72 ± 14*	80 ± 14	82 ± 12	81 ± 12	83 ± 13	P3 = 0,013
PaO ₂ /FIO ₂								P1 = 0,364
CTL	411 ± 29	401 ± 32	369 ± 71†	389 ± 30	383 ± 32	348 ± 48†	334 ± 49†	P2 < 0,001
SIL	405 ± 26	392 ± 33	410 ± 34*	387 ± 39	380 ± 29	379 ± 25	370 ± 33*	P3 < 0,001

Ht = hematócrito; DO₂l = Índice de Oferta de Oxigênio; VO₂l = Índice de Consumo de Oxigênio; TeO₂ = Taxa de Extração de Oxigênio; Qs/Qt = *Shunt* Intrapulmonar; P(A-a)O₂ = Gradiente Alveolar Arterial de oxigênio; PaO₂/FIO₂ = Relação da pressão arterial de oxigênio/fracção inspirada de oxigênio. † indica valor diferente do momento Basal (p<0,05). * indica valor diferente do grupo Controle (p<0,05). P1 = fator grupo; P2 = fator tempo; P3 = interação grupo x tempo.

a) pH Arterial (pHa), Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (PaCO₂) e Oxigênio (PaO₂), Bicarbonato (HCO₃), Excesso de Base (EB), Potássio (K⁺), Sódio (Na⁺) e Lactato

Ambos os grupos apresentaram aumento significativo do pH arterial aos 30 minutos de infusão de LPS e posterior redução significativa dos valores nos momentos LPS120, LPS150 e LPS180, quando comparado ao momento Basal. Contudo, em ambos os grupos ocorreu aumento significativo do bicarbonato apenas no momento LPS30.

Os valores médios de PaCO₂ de ambos os grupos aumentaram significativamente aos 90 minutos da infusão do LPS e permaneceram aumentados até o final do experimento.

Em relação aos valores de PaO₂, no grupo Controle foi observado diminuição significativa no momento LPS30, LPS120, LPS150 e LPS180. Já no grupo Sildenafil ocorreu diminuição significativa dos valores apenas no momento LPS180. Ademais, foi observada diferença significativa entre os grupos no momento LPS30 e LPS180, no qual o grupo Sildenafil apresentou valores de PaO₂ maiores do que o grupo Controle.

Em ambos os grupos, os valores de lactato aumentaram significativamente no momento LPS120, LPS150 e LPS180, e os valores de excesso de base aumentaram significativamente no momento LPS30 e sofreram redução significativa nos momentos LPS150 e LPS180. Contudo, não ocorreu diferença significativa desses valores em relação aos grupos (Gráfico 14).

Gráfico 14 - Valores médios e desvio padrão do pH arterial, PaCO₂, bicarbonato e lactato dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

Os valores de sódio de ambos os grupos diminuíram significativamente nos momentos LPS30, LPS120 e LPS180. Em relação aos valores de potássio, ocorreu aumento significativo aos 30 minutos após o início da infusão de LPS e permaneceram aumentados durante todo o experimento, porém não houve diferença significativa entre os grupos.

b) SvO₂

Os valores médios de SvO₂ do grupo Controle aumentaram significativamente aos 60 minutos após o início da infusão de LPS e permaneceram aumentados até o final do experimento. Já no grupo Sildenafil, os valores de SvO₂ aumentaram significativamente nos momentos LPS60, LPS90 e LPS120.

Ademais, no momento LPS30 ocorreu diferença significativa entre os grupos, no qual o grupo Sildenafil apresentou valor médio de SvO₂ maior do que o grupo Controle (Gráfico 15).

Gráfico 15 - Valores médios e desvio padrão da SvO₂ dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal (p<0,05)

*Significativamente diferente do grupo Controle (p<0,05)

c) Hematócrito (Ht)

Os valores médios de Ht aumentaram significativamente no grupo Controle no momento LPS90 e permaneceram aumentados até o final do experimento. Já no grupo Sildenafil os valores de Ht aumentaram significativamente no momento LPS150 e LPS180. Contudo, não houve diferença significativa entre os grupos (Gráfico 16).

Gráfico 16 - Valores médios e desvio padrão do hematócrito (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

d) Índice de Oferta de Oxigênio e Índice de Consumo de Oxigênio

Os valores de DO_2I de ambos os grupos aumentaram de forma significativa no momento LPS60 e permaneceram aumentados até o final do experimento. Já os valores de VO_2I não apresentaram alteração significativa ao longo do tempo. Contudo, tanto a oferta de oxigênio quanto o consumo, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Gráfico 17).

Gráfico 17 - Valores médios e desvio padrão dos índices de oferta e consumo de oxigênio (mL/min/m²) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

e) Taxa de Extração de Oxigênio

A taxa de extração de oxigênio foi significativamente menor em ambos os grupos nos momentos LPS60, LPS90, LPS120 e LPS150; sendo que o grupo Sildenafil apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo Controle no momento LPS30 (Gráfico 18).

Gráfico 18 - Valores médios e desvio padrão da taxa de extração de oxigênio (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

f) *Shunt intrapulmonar*

Os valores de Qs/Qt aumentaram significativamente nos momentos LPS60, LPS90, LPS120 e LPS150 do grupo Controle; e no momento LPS0, LPS30, LPS60, LPS90, LPS120 e LPS150 do grupo Sildenafil. Ocorreu diferença significativa no grupo Sildenafil comparado com o grupo Controle nos momentos LPS30 e LPS90, no qual o grupo Sildenafil apresentou maiores valores de *shunt* intrapulmonar (Gráfico 19).

Gráfico 19 - Valores médios e desvio padrão de shunt intrapulmonar (%) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

g) Gradiente alvéolo-arterial de oxigênio e Relação da pressão arterial de oxigênio/fração inspirada de oxigênio

Pode-se verificar aumento significativo dos valores de $P(A - a)O_2$ nos momentos LPS30, LPS150 e LPS180 do grupo Controle. Verificou - se ainda que houve diferença significativa entre os grupos no momento LPS30, no qual o grupo Sildenafil apresentou valores menores de $P(A - a)O_2$ comparados ao grupo Controle.

Em relação a $[PaO_2/FiO_2]$, ocorreu diminuição significativa dos valores no momento LPS30, LPS120, LPS150 e LPS180 no grupo Controle. Já no grupo Sildenafil ocorreu diminuição significativa dos valores de PaO_2/FiO_2 apenas no momento LPS180. Verificou-se também que houve diferença significativa entre os grupos nos momentos LPS30 e LPS180, no qual os valores de PaO_2/FiO_2 foram maiores no grupo Sildenafil (Gráfico 20).

Gráfico 20 - Valores médios e desvio padrão da relação PaO_2/FiO_2 dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

*Significativamente diferente do grupo Controle ($p < 0,05$)

5.5 Estudo Ecodopplercardiográfico

a) Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo, Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo, Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo e Volume Diastólico Final do Ventrículo Direito

A fração de ejeção do ventrículo esquerdo não apresentou alteração significativa ao longo do tempo e nem entre grupos. Já os volumes sistólico e diastólico final do ventrículo esquerdo apresentaram diminuição dos valores no final do experimento em ambos os grupos, porém não houve diferença entre eles.

O volume diastólico final do VD no grupo Controle aumentou significativamente nos momentos LPS30, LPS60 e LPS180 (Figura 2). Já o grupo sildenafil não apresentou alteração significativa ao longo do tempo, mas houve diferença significativa entre os grupos nos momentos LPS30, LPS60, LPS120 e LPS180 (Tabela 5).

Figura 2 - Imagem ecocardiográfica do animal do grupo Controle. A, Basal; B, 30 minutos após a administração de LPS, evidenciando o aumento do ventrículo direito

Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros ecocardiográficos dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

	Basal				ANOVA		
	LPS0	LPS30	LPS60	LPS120	LPS180		
FEVE (%)							
CTL	62,6 ± 4,9	64,5 ± 6,5	61,6 ± 11,9	66,6 ± 7,5	62,9 ± 6,6	67,0 ± 6,4	P1 = 0,719 P2 = 0,279
SIL	61,2 ± 3,2	63,8 ± 8,4	63,9 ± 8,5	66,1 ± 4,2	66,3 ± 4,8	63,0 ± 7,3	P3 = 0,391
VSFVE (mL)							
CTL	9,8 ± 3,3	8,8 ± 2,5	9,0 ± 4,1	9,8 ± 3,7	9,2 ± 3,2	7,2 ± 2,8†	P1 = 0,512 P2 = 0,002
SIL	8,4 ± 1,9	7,9 ± 2,1	8,0 ± 1,9	7,0 ± 1,4	6,8 ± 1,0	6,3 ± 1,6†	P3 = 0,691
VDFVE (mL)							
CTL	25,5 ± 6,1	26,6 ± 4,5	23,2 ± 4,5	27,6 ± 4,8	24,3 ± 5,8	21,4 ± 5,9†	P1 = 0,541 P2 < 0,001
SIL	21,9 ± 4,8	22,0 ± 4,3	23,7 ± 6,5	21,4 ± 6,1	20,0 ± 2,7	17,4 ± 3,2†	P3 = 0,059
VDFVD (mL)							
CTL	9,9 ± 2,1	10,7 ± 2,2	20,1 ± 3,3†	13,9 ± 3,6†	13,4 ± 3,0	13,6 ± 1,9†	P1 < 0,001 P2 < 0,001
SIL	10,4 ± 1,3	10,7 ± 2,7	11,8 ± 3,3*	10,5 ± 2,4*	10,7 ± 1,5*	8,0 ± 1,3*	P3 < 0,001

FEVE = Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo; VSFVE = Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo; VDFVE = Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo; VDFVD = Volume Diastólico Final do Ventrículo Direito. † indica valor diferente do momento Basal (p<0,05).
* indica valor diferente do grupo Controle (p<0,05). P1 = fator grupo; P2 = fator tempo; P3 = Interação grupo x tempo.

5.6 Citocinas Inflamatórias e Troponina I Cardíaca

a) Interleucinas ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-10$)

Todas as interleucinas inflamatórias ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-10$) aumentaram significativamente no momento LPS180, porém não houve diferença significativa entre os grupos (Gráfico 21 e Tabela 6).

Gráfico 21 - Mediana e percentil (25%-75%) da concentração sérica de citocinas (pg/mL) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

•Valores extremos

Tabela 6 - Mediana e percentil (25%-75%) da concentração sérica de citocinas e da troponina cardíaca dos animais do grupo Controle (CTL) e Sildenafil (SIL)

	Basal	LPS180	ANOVA
TNF- α (pg/mL)			P1 = 0,718
CTL	77,9 (65,9 - 107,2)	11.160 (5,969 - 14,945) [†]	P2 < 0,001
SIL	58,2 (37,5 - 95,3)	11,639 (6,571 - 14,863) [†]	P3 = 0,764
IL - 1β (pg/mL)			P1 = 0,821
CTL	0 (0 - 4)	116,5 (57,10 - 207,9) [†]	P2 < 0,001
SIL	0 (0 - 0,3)	63,8 (24,7 - 137,4) [†]	P3 = 0,853
IL - 6 (pg/mL)			P1 = 0,244
CTL	0 (0 - 0)	11,784 (8,227 - 17,004) [†]	P2 < 0,001
SIL	0 (0 - 0)	10,682 (6,580 - 12,566) [†]	P3 = 0,244
IL - 10 (pg/mL)			P1 = 0,913
CTL	0 (0 - 0,2)	25,7 (19,4 - 31,6) [†]	P2 < 0,001
SIL	1,1 (0 - 1,4)	24,4 (18,7 - 47,8) [†]	P3 = 0,916
TNNI (ng/mL)			P1 = 0,089
CTL	0,9 (0,6 - 1,2)	2,4 (1,4 - 2,9) [†]	P2 < 0,001
SIL	1,3 (1,0 - 1,9)	2,9 (2,3 - 3,4) [†]	P3 = 0,360

TNF- α = Fator de Necrose Tumoral Alfa; IL-1 β = Interleucina 1 Beta; IL-6 = Interleucina 6; IL-10 = Interleucina 10; TNNI = Troponina Cardíaca I. † indica valor diferente do momento Basal (p<0,05).

b) Troponina I

Os valores de troponina I cardíaca aumentaram significativamente no momento LPS180, porém não houve diferença significativa entre os grupos (Gráfico 22 e Tabela 6).

Gráfico 22 - Mediana e percentil (25%-75%) da concentração sérica de troponina I cardíaca (ng/mL) dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

†Significativamente diferente do momento Basal ($p < 0,05$)

•Valores extremos

5.7 Análise Histopatológica

Na Tabela 7 encontram-se os escores dos parâmetros avaliados nas lâminas de tecido pulmonar dos animais estudados. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos no escore histopatológico.

Tabela 7 - Mediana (máx-mín) dos escores histopatológico dos animais dos grupos Controle e Sildenafil

	Área	Controle	Sildenafil	Valor de P
Atelectasia	PD	0,5 (0 - 2)	1 (0 - 2)	> 0,05
	PND	0 (0 - 1)	0 (0 - 2)	
	PI	0 (0 - 2)	0,5 (0 - 2)	
	Total	1 (3 - 0)	2 (3 - 0)	
Hiperinsuflação	PD	4 (3 - 4)	4 (4 - 4)	> 0,05
	PND	4 (3 - 4)	4 (4 - 4)	
	PI	4 (3 - 4)	4 (4 - 4)	
	Total	12 (10 - 12)	12 (12 - 12)	
Inflamação	PD	3,5 (1 - 4)	4 (2 - 4)	> 0,05
	PND	4 (1 - 4)	3 (0 - 4)	
	PI	3 (1 - 4)	4 (2 - 4)	
	Total	10 (7 - 12)	9,5 (7 - 12)	
Edema	PD	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	> 0,05
	PND	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	
	PI	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	
	Total	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	
Hemorragia	PD	1 (0 - 2)	1,5 (0 - 2)	> 0,05
	PND	0,5 (0 - 2)	1 (0 - 2)	
	PI	1,5 (0 - 2)	1 (0 - 2)	
	Total	3 (0 - 6)	3,5 (0 - 6)	

PD = Porção dependente; PND = Porção não dependente; PI = Porção intermediário.

As imagens obtidas por meio de microscopia óptica de lâminas coradas com HE do grupo Controle e do grupo Sildenafil demonstraram predomínio de intenso infiltrado mononuclear com espessamento de septos interalveolares, alvéolos distendidos, septos interalveolares destruídos, congestão e áreas de atelectasia (Figura 3).

Figura 3 - Imagens obtidas por microscopia óptica (x20) do corte histológico do lobo pulmonar diafragmático direito de animais do grupo Controle e Sildenafil. A, animal do grupo Sildenafil, seta evidenciando o espessamento do septo interalveolar e asterisco evidenciando o intenso infiltrado mononuclear; B, animal do grupo controle, asterisco evidenciando o intenso infiltrado mononuclear e congestão; C, animal do grupo sildenafil, setas evidenciando os alvéolos distendidos; D, animal do grupo Controle, setas evidenciando os alvéolos distendidos

6 DISCUSSÃO

Como resultado principal verificou-se que o sildenafil atenuou a hipertensão pulmonar induzida pelo choque, porém acarretou diminuição da pressão arterial sistêmica. Ademais, o sildenafil manteve oxigenação adequada, porém não apresentou efeito sobre a fração de *shunt* intrapulmonar.

O choque endotoxêmico foi induzido com sucesso através da infusão de LPS, com aumento significativo da PAP, das citocinas séricas e da troponina cardíaca. O LPS induziu um estado hiperdinâmico aos 30 minutos após o início da infusão, com acentuada elevação na pressão arterial pulmonar e sistêmica. Este efeito da infusão de LPS está associado à liberação maciça de tromboxanos e endotelina-1⁷²⁻⁷⁶.

O LPS acarretou aumento da frequência cardíaca e diminuição da RVS, com consequente aumento no índice cardíaco, ocasionando maior oferta de oxigênio aos tecidos e diminuição da taxa de extração de oxigênio. Na circulação pulmonar, o LPS induziu o aumento da RVP, que ocasionou dois fatos marcantes: (a) diminuição da complacência pulmonar com aumento da pressão de pico e consequente diminuição da relação PaO_2/FiO_2 e (b) aumento da PAP, com consequente aumento do índice de trabalho do VD, devido ao aumento da pós-carga.

A administração de LPS em suínos é um modelo comumente utilizado para simular o choque séptico humano. O LPS é uma molécula derivada da

membrana celular externa de bactérias gram-negativas, sendo considerado o principal fator responsável pelas manifestações tóxicas de infecções por bactérias gram-negativas bem como por inflamação sistêmica⁷²⁻⁷⁶. Desta forma, a infusão de LPS ocasionou lesão pulmonar aguda e hipertensão pulmonar nos animais do estudo.

Como não há estudos farmacocinéticos do sildenafil em modelo suíno, a dose empregada foi baseada em estudos pilotos realizados com doses crescentes até atingir o efeito hemodinâmico desejado na pressão de artéria pulmonar. Foram realizados quatro pilotos com doses de 20 mg, 40 mg, 80 mg (Revatio 20 mg, Pfizer) e 100 mg (Viagra 50 mg, Pfizer) de citrato de sildenafil. Obteve-se maior efeito hipotensor pulmonar com a dose máxima do estudo piloto, razão pela qual optou-se pela dosagem de 100 mg de sildenafil por animal. Ademais, optou-se pela administração do sildenafil antes do insulto gerado pelo LPS para que não houvesse possíveis interferências na absorção do fármaco.

O período observacional do estudo foi baseado no tempo de meia vida do fármaco em humanos, cuja meia vida terminal é de aproximadamente quatro horas. O Sildenafil é rapidamente absorvido pela via oral em humanos, e como não há dados em modelos suínos, optou-se pela coleta de dados após 30 minutos da administração (Momento LPS0) para avaliar os efeitos hemodinâmicos do fármaco sem a prévia indução do choque. Propositamente, o pico de ação esperado do fármaco coincidiu com a fase de maior aumento da PAP, aos 30 minutos de infusão de LPS.

A administração de sildenafil causou efeito hemodinâmico na circulação sistêmica, com valores significativamente menores de PAM e IRVS quando

comparado ao grupo Controle e ao momento Basal. Tal fato pode ser atribuído à dose empregada, pois ao objetivar uma dose com maior efeito hipotensor pulmonar pôde-se observar um efeito na circulação sistêmica mais proeminente. Estes achados corroboram com o estudo conduzido por Bathia *et al.*⁷⁷, no qual observou redução da pressão arterial média ao utilizar doses crescentes de sildenafil até atingir a dose de 100mg em pacientes com hipertensão pulmonar. Entretanto, Ghofrane *et al.*⁷⁸ observaram redução em torno de 10% da PAM em pacientes com fibrose e hipertensão pulmonar que receberam a dose de 50 mg de sildenafil. Em modelo experimental de lesão pulmonar aguda em ovinos, apesar da seletividade pulmonar observada no estudo, ocorreu diminuição de 12% da PAM com a dose de 2,5 mg/kg de sildenafil⁶⁵. Segundo Kloner⁷⁹, o sildenafil pode acarretar redução da pressão arterial sistêmica, porém esta redução é clinicamente insignificante nos pacientes com hipertensão pulmonar. Entretanto, em pacientes sépticos a administração de sildenafil pode causar evidente hipotensão sistêmica devido ao aumento de GMPc circulante característico da sepse⁸⁰.

Segundo a literatura consultada, a dose de 2 a 3 mg/kg de sildenafil em porcos é suficiente para causar diminuição da PAP e o aumento da dose diminui a pressão arterial sistêmica, refletindo a perda da seletividade^{64,81}. Entretanto, nos pilotos deste estudo nestas doses não foi observado o efeito na PAP, provavelmente devido à magnitude da hipertensão pulmonar induzida pelo LPS.

Os valores de PAPM foram significativamente menores no grupo Sildenafil, apresentando valores maiores que o momento Basal apenas aos 30 minutos de infusão de LPS, que corresponde ao estado hiperdinâmico do

choque endotoxêmico, e no final do período observacional, onde a concentração sérica do fármaco era menor.

O Sildenafil diminuiu a RVP, com consequente diminuição do índice de trabalho do VD, devido à diminuição da pós-carga. Este efeito é almejado no paciente séptico, pois a RVP geralmente aumenta na sepse, especialmente na presença de lesão pulmonar aguda. Desta forma, o VD enfrenta um aumento súbito na pós-carga em um momento em que o ventrículo esquerdo necessita aumentar o DC para compensar a queda da RVS. Na sepse, o VD tolera menos este aumento da pós-carga, pois há um desequilíbrio na oferta e consumo de oxigênio dos tecidos e ainda a perfusão do VD encontra-se reduzida⁷.

Ainda em relação à hemodinâmica, observaram-se valores de variação de pressão de pulso em alguns momentos menores e em outros maiores no grupo Sildenafil quando comparado com o grupo Controle. Segundo Daudel *et al.*⁸² a responsividade à fluidoterapia não pode ser predita através da variação da pressão de pulso durante a hipertensão pulmonar em porcos com endotoxemia. Contudo, apesar da perda do valor preditivo do VPP, os porcos permanecem responsivos à volemia.

Neste estudo, optou-se por não realizar intervenções terapêuticas para restaurar o DC ou a pressão arterial, pois o intuito foi avaliar toda a hemodinâmica do sildenafil no choque endotoxêmico sem a interferência de fatores externos.

O sildenafil não atenuou os efeitos do LPS na complacência pulmonar e na pressão de vias aéreas, porém manteve a oxigenação com maior relação

PaO_2/FiO_2 , menor taxa de extração de oxigênio e consequente maior SvO_2 . Em estudo conduzido por Ghofrani *et al.*⁷⁸, o sildenafil otimizou a troca gasosa de pacientes com fibrose pulmonar severa e hipertensão pulmonar secundária, o autor atribuiu ao fato do sildenafil possivelmente amplificar os mecanismos regulatórios locais dos vasos da circulação pulmonar. A concentração de óxido nítrico é reduzida drasticamente com a hipóxia e aumenta com a reoxigenação alveolar, fazendo parte dos mecanismos hipóxia vasoconstrição/normóxia vasodilatação. Desta forma, o sildenafil ao diminuir a RVP também aumenta a relação ventilação/perfusão. Esta melhora na oxigenação também pode ser traduzida em estudos clínicos que observaram maior tolerância ao exercício após a administração do sildenafil⁸³⁻⁸⁵. Contudo, os estudos experimentais apontam uma deterioração da oxigenação em animais que receberam sildenafil, principalmente na presença de lesão pulmonar aguda. Acredita-se que o sildenafil aumenta a perfusão de áreas não ventiladas, ou seja, diminui a relação ventilação-perfusão^{52,86}.

Em relação aos parâmetros ecocardiográficos, nenhum dos grupos apresentou alteração significativa da fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Na sepse, a redução da fração de ejeção ocorre por volta de 24 horas após o início da sepse, sendo reversível nos pacientes que sobrevivem⁸⁷. Contudo, o período observacional do presente estudo evidenciou o estado hiperdinâmico do choque, no qual não é esperado redução da fração de ejeção.

Apesar da fração de ejeção ser tradicionalmente utilizada para avaliação sistólica na sepse, esta pode ser afetada por alterações na

volemia e pré-carga, podendo não refletir adequadamente a contratilidade. Uma avaliação ecocardiográfica que tem sido estudada recentemente para avaliar disfunção ventricular precoce é o *speckle-tracking* (STE). Em recente estudo na sepse, o STE detectou disfunção ventricular esquerda em 69% dos pacientes comparado à 33% utilizando a fração de ejeção. Em relação à disfunção ventricular direita, o STE detectou 72% comparado à 32% com a fração de ejeção. Ademais, a disfunção ventricular direita observada com o STE foi associada com o aumento da mortalidade em pacientes com sepse grave e choque séptico, o que evidencia a importância do VD na sepse⁸⁸.

Ainda em relação ao estudo ecodopplercardiográfico, observou-se o aumento do diâmetro diastólico do VD frente à hipertensão pulmonar induzida pelo LPS no grupo controle. Sabe-se que o VD tolera menos sobrecarga de pressão do que de volume, e quando ocorre aumento súbito na pós-carga o VD dilata significativamente e o volume sistólico diminui⁸⁹. Ao exame ecocardiográfico é possível observar a dilatação da cavidade ventricular, que modifica sua forma semilunar, deixando-o mais concêntrico. Além disso, o septo interventricular fica retificado, podendo haver abaulamento e compressão ventricular esquerda⁸⁹.

Apesar da fração de ejeção ser considerada o método padrão para avaliar a função ventricular, não é facilmente executável no lado direito do coração, devido à complexidade anatômica do VD, pois a parede mais trabeculada do VD dificulta a definição da borda endocárdica. Portanto, optou-se pelo emprego do diâmetro diastólico final do VD como medida para avaliação ventricular direita.

De qualquer forma, foi possível visualizar o aumento do diâmetro ventricular direito e sua modificação anatômica no pico da hipertensão pulmonar. Esta alteração é tolerável desde que transitória e em corações saudáveis, porém em pacientes cardiopatas pode reduzir significativamente o DC ocasionando disfunção ventricular e até mesmo falência do VD⁹⁰. Portanto, talvez nestes pacientes cardiopatas que desenvolvem choque séptico com lesão pulmonar aguda, cujo o coração previamente comprometido encontra-se frente à um aumento abrupto da pós-carga direita, o sildenafil pode ter aplicação clínica. Desde que, os possíveis efeitos hipotensores sejam controlados com a utilização de vasoativos e inotrópicos.

A administração de LPS induziu a liberação de citocinas inflamatórias. Segundo Wyns *et al.*⁹¹, o LPS em porcos induz uma resposta inflamatória caracterizada pela liberação de TNF- α , IL-1 β e IL6, como observado neste estudo. Entretanto, o sildenafil não atenuou os níveis séricos das citocinas inflamatórias.

Em estudo realizado por Cardici *et al.*⁷⁰ obteve-se uma redução da citocina inflamatória TNF- α com o uso do sildenafil em modelo de sepse em ratos. Yildirim *et al.*⁶⁸ também observaram que o sildenafil atenuou a resposta inflamatória em modelo experimental de fibrose pulmonar em ratos, através de níveis séricos menores de TNF- α e IL-1 β no grupo tratado com sildenafil. Da mesma forma, o pré-tratamento com sildenafil na lesão de isquemia e reperfusão culminou em níveis menores de TNF- α e IL-6 no tecido pulmonar⁶⁷. Contudo, em estudo *in vitro* de hipertensão pulmonar induzida por hipóxia, o sildenafil não reduziu os níveis de TNF- α e IL-1 β na

artéria pulmonar⁹². Do mesmo modo, em estudo murino de asma alérgica, o sildenafil também não atenuou os marcadores inflamatórios TNF- α , IL-4 e IL-5⁹³. Portanto, o efeito anti-inflamatório do sildenafil é controverso e necessita de novos estudos focados nesta área.

O choque endotoxêmico produzido pela infusão de LPS foi capaz de induzir de forma significativa o aumento da concentração sérica de troponina, porém a administração de sildenafil não apresentou efeito neste marcador. A troponina I cardíaca é um marcador de lesão miocárdica de origem especificamente da musculatura cardíaca, que apresenta correlação tanto na disfunção miocárdica no choque séptico quanto na hipertensão pulmonar^{32,94,95}. Segundo Vélez-Martínez *et al.*⁹⁵, o aumento dos níveis séricos de troponina está correlacionado ao aumento da PAPM e à mortalidade, não se sabe ao certo o exato mecanismo, mas é plausível que a concentração de troponina corresponde a uma medida global da resposta do VD ao aumento da pós carga. Contudo, não há estudos que correlacionem pacientes que receberam sildenafil com menores valores séricos de troponina.

A análise histopatológica no presente estudo demonstrou acentuada inflamação do tecido pulmonar em ambos os grupos, além de atelectasia, hiperinsuflação, hemorragia, congestão e destruição de septos interalveolares. Estes achados são compatíveis com alterações histopatológicas descritas pela literatura em animais com lesão pulmonar aguda induzida por LPS^{73,96}.

Recentemente, Kiss *et al.*⁹⁷ através de modelo murino de hipertensão pulmonar induzida por monocrotalina, demonstraram outros efeitos

benéficos do sildenafil independente do seu efeito vasodilatador principal, no qual o aumento do GMPc induzido pelo sildenafil interfere na sinalização de citocinas, resultando em efeito protetor do tecido pulmonar. Contudo, tal fato não foi demonstrado no presente estudo, possivelmente devido à diferença no modelo experimental, bem como na técnica empregada.

As grandes limitações deste estudo estão relacionadas à ausência de informações sobre a farmacocinética e farmacodinâmica do sildenafil em modelo suíno. Desta forma, a realização da dosagem sérica do fármaco ou um estudo preliminar dos efeitos farmacológicos nesta espécie seriam de grande valia. Ademais, a administração do sildenafil por via oral pode causar diferenças na concentração sérica do fármaco, a forma injetável seria mais apropriada para esta finalidade de estudo, porém esta apresentação não está disponível comercialmente.

Outra limitação do estudo diz respeito à reprodução do modelo de choque endotoxêmico empregado neste estudo. O lipopolissacárido é um dos mais eficazes estimuladores do sistema imune e, por conseguinte, tem sido amplamente empregado em diferentes espécies animais para estudar sepse. No entanto, a adequação do modelo de LPS para estudar sepse é controversa. A endotoxemia experimental é limitada, devido à falta de um foco infeccioso anterior à reação imunológica induzida, característico nos quadros de sepse⁹⁸.

Além disso, a hipertensão pulmonar induzida pelo LPS no modelo suíno apresenta características singulares. Em contraste com outras espécies, um aumento dramático na PAP é observado em porcos em

resposta à endotoxina LPS. Esta espécie apresentam macrófagos diferenciados dentro de vasos capilares pulmonares e supõe-se que esses macrófagos induzem uma liberação rápida e maciça de TXA₂ em resposta ao LPS, resultando em uma hipertensão pulmonar grave e possível disfunção cardíaca⁹⁸. Portanto, apesar do modelo empregado induzir hipertensão pulmonar como no choque séptico, os mecanismos possivelmente são diferentes, o que pode interferir na ação do fármaco sildenafil.

Contudo, considerando as limitações do estudo, foi possível alcançar o objetivo proposto de avaliar os efeitos do sildenafil em modelo experimental de choque endotoxêmico na espécie suína, cujos resultados podem auxiliar futuras pesquisas que visam a utilização deste fármaco na sepse.

7 CONCLUSÕES

a) O sildenafil atenuou a hipertensão pulmonar induzida pelo choque endotoxêmico em suínos, porém acarretou diminuição da pressão arterial sistêmica.

b) O sildenafil não minimizou os efeitos do LPS na complacência pulmonar e na pressão de vias aéreas, mas manteve a oxigenação, fato evidenciado por uma melhor relação PaO_2/FiO_2 e maior SvO_2 , porém não apresentou efeito sobre a fração de *shunt* intrapulmonar.

c) O sildenafil não atenuou a resposta inflamatória e a lesão miocárdica decorrente do choque endotoxêmico.

d) O sildenafil não atenuou as alterações histopatológicas decorrente do choque endotoxêmico.

e) O sildenafil não alterou o volume diastólico final do ventrículo direito frente à hipertensão pulmonar induzida pelo choque endotoxêmico.

8 REFERÊNCIAS

1. Claessens YE, Dhainaut JF. Diagnosis and treatment of severe sepsis. *Critical Care*. 2007; 11(Suppl 5):S2.
2. Simmons J, Pittet JF. The coagulopathy of acute sepsis. *Cur Opin Anaesthesiol*. 2015; 28(2):227-36.
3. Iskander KN, Osuchowski MF, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S, Stepien D, Valentine C, Remick DG. Sepsis: multiple abnormalities, heterogeneous responses, and evolving understanding. *Physiol Rev*. 2013; 93(3):1247-88.
4. Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, Kurosawa S, Remick DG. The pathogenesis of sepsis. *Ann Rev Pathol*. 2011; 6:19-48.
5. Court O, Kumar A, Parrillo JE, Kumar A. Clinical review: Myocardial depression in sepsis and septic shock. *Critic Care*. 2002; 6(6):500-8.
6. Ichinose F, Hataishi R, Wu JC, Kawai N, Rodrigues AC, Mallari C, Post JM, Parkinso JF, Picard MH, Cloch KD, Zapol WM. A selective inducible NOS dimerization inhibitor prevents systemic, cardiac, and pulmonary hemodynamic dysfunction in endotoxemic mice. *Am J PhysiolHeart Circ Physiol*. 2003; 285(6):H2524-30.

7. Chan CM, Klinger JR. The right ventricle in sepsis. *Clini Chest Med*. 2008; 29(4):661-76, ix.
8. Sibbald WJ, Paterson NA, Holliday RL, Anderson RA, Lobb TR, Duff JH. Pulmonary hypertension in sepsis: measurement by the pulmonary arterial diastolic-pulmonary wedge pressure gradient and the influence of passive and active factors. *Chest*. 1978; 73(5):583-91.
9. Raja SG, Danton MD, MacArthur KJ, Pollock JC. Treatment of pulmonary arterial hypertension with sildenafil: from pathophysiology to clinical evidence. *J Cardiothorac Vasc Ansth*. 2006; 20(5):722-35.
10. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ, ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992; 101(6):1644-55.
11. Morrell MR, Micek ST, Kollef MH. The management of severe sepsis and septic shock. *Infect Dis Clin North Am*. 2009; 23(3):485-501.
12. Jawad I, Luksic I, Rafnsson SB. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *J Glob Health*. 2012; 2(1):010404.

13. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, Angus DC, Reinhart K, International Forum of Acute Care Trialists. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis - Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 Sep 28.
14. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001; 29(7):1303-10.
15. Vincent JL. Update on sepsis: pathophysiology and treatment. *Acta Clin Belg*. 2000; 55(2):79-87.
16. Sales Junior JA, David CM, Hatum R, Souza PC, Japiassu A, Pinheiro CT, Friedman G, Silva OB, Dias MD, Koterba E, Dias FS, Piras C, Luiz RR, Grupo de Estudo de Sepse do Fundo AMIB. An epidemiological study of sepsis in Intensive Care Units: Sepsis Brazil study. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2006; 18(1):9-17.
17. Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, Cal RG, de Sousa EF, Abe TP, de Andrade J, de Matos Jd, Rezende E, Assunção M, Avezum A, Rocha PC, de Matos GF, Bento AM, Corrêa AD, Vieira PC, Knobel e, Brazilian Sepsis Epidemiological Study. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care*. 2004; 8(4):R251-60.

18. Dellinger RP. The Surviving Sepsis Campaign: 2013 and beyond. *Chin Med J (Engl)*. 2013; 126(10):1803-5.
19. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013; 41(2):580-637.
20. Castellanos-Ortega A, Suberviola B, Garcia-Astudillo LA, Holanda MS, Ortiz F, Llorca J, Delgado-Rodríguez M. Impact of the Surviving Sepsis Campaign protocols on hospital length of stay and mortality in septic shock patients: results of a three-year follow-up quasi-experimental study. *Crit Care Med*. 2010; 38(4):1036-43.
21. Wang Z, Xiong Y, Schorr C, Dellinger RP. Impact of sepsis bundle strategy on outcomes of patients suffering from severe sepsis and septic shock in china. *J Emerg Med*. 2013; 44(4):735-41.
22. Machado FR, Mazza BF. Improving mortality in sepsis: analysis of clinical trials. *Shock*. 2010; 34 Suppl 1:54-8.
23. Guillaumet MC, Rhee C, Patterson AJ. Cardiovascular management of septic shock in 2012. *Curr Infect Dis Rep*. 2012; 14(5):493-502.

24. Lee WL, Liles WC. Endothelial activation, dysfunction and permeability during severe infections. *Curr Opin Hematol*. 2011; 18(3):191-6.
25. Spicer A, Calfee CS. Fixing the leak: targeting the vascular endothelium in sepsis. *Crit Care*. 2012; 16(6):177.
26. Alfieri A, Watson JJ, Kammerer RA, Tasab M, Proglas P, Reeves K, Brown NJ, Brookes ZL. Angiopoietin-1 variant reduces LPS-induced microvascular dysfunction in a murine model of sepsis. *Crit Care*. 2012; 16(5):R182.
27. Lamontagne F, Cook DJ, Adhikari NK, Briel M, Duffett M, Kho ME, Burnes KE, Guyatt G, Turgeon AF, Zhou Q, Meade MO. Vasopressor administration and sepsis: a survey of Canadian intensivists. *J Crit Care*. 2011; 26(5):532 e1-7.
28. Knuefermann P, Boehm O, Baumgarten G, Zacharowski K. Sepsis-induced vasoplegia--is vasopressin V1A-receptor a new target? *Crit Care Med*. 2008; 36(8):2468-9.
29. Werdan K, Oelke A, Hettwer S, Nuding S, Bubel S, Hoke R, Russ M, Lautenschläger C, Mueller-Werdan U, Ebelt H. Septic cardiomyopathy: hemodynamic quantification, occurrence, and prognostic implications. *Clin Res Cardiol*. 2011; 100(8):661-8.
30. Dhainaut JF, Lanore JJ, de Gournay JM, Huyghebaert MF, Brunet F, Carli A, Monsallier JF. Right ventricular dysfunction in human septic shock. *Prog Clin Bio Res*. 1988; 264:343-8.

31. Fernandes CJ, Jr., Akamine N, Knobel E. Cardiac troponin: a new serum marker of myocardial injury in sepsis. *Intensive Care Med.* 1999; 25(10):1165-8.
32. Mehta NJ, Khan IA, Gupta V, Jani K, Gowda RM, Smith PR. Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *Intensive Care Med.* 2004; 95(1):13-7.
33. Rosjo H, Varpula M, Hagve TA, Karlsson S, Ruokonen E, Pettila V, Omland T, FINNSEPIS Study Group. Circulating high sensitivity troponin T in severe sepsis and septic shock: distribution, associated factors, and relation to outcome. *Intensive Care Med.* 2011; 37(1):77-85.
34. Woolley DS, Puglisi RN, Quinn JV, Slotman GJ. Platelet activating factor mediates cardiopulmonary dysfunction during graded bacteremic shock. *J Trauma.* 1996; 41(2):291-6.
35. Snapper JR, Thabes JS, Lefferts PL, Lu W. Role of endothelin in endotoxin-induced sustained pulmonary hypertension in sheep. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157(1):81-8.
36. Clavijo LC, Carter MB, Matheson PJ, Wills-Frank LA, Wilson MA, Wead WB, Garrison RN. Platelet-activating factor and bacteremia-induced pulmonary hypertension. *J Surg Res.* 2000; 88(2):173-80.

-
37. Lambermont B, Kolh P, Ghuysen A, Segers P, Dogne JM, Tchana-Sato V, Morimont , Benoit P, Gérard P, Masereel B, D'Orio B. Effect of a novel thromboxane A2 inhibitor on right ventricular-arterial coupling in endotoxic shock. *Shock*. 2004; 21(1):45-51.
 38. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991; 43(2):109-42.
 39. Murray PT, Wylam ME, Umans JG. Nitric oxide and septic vascular dysfunction. *Anesth Analg*. 2000; 90(1):89-101.
 40. Zhang H, Rogiers P, Smail N, Cabral A, Preiser JC, Peny MO, Vincent JO. Effects of nitric oxide on blood flow distribution and O2 extraction capabilities during endotoxic shock. *J Appl Physiol (1985)*. 1997; 83(4):1164-73.
 41. Vincent JL, Zhang H, Szabo C, Preiser JC. Effects of nitric oxide in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(6):1781-5.
 42. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, Mathura KR, Oudemans-van Straaten HM, Zandstra DF. Nitroglycerin in septic shock after intravascular volume resuscitation. *Lancet*. 2002; 360(9343):1395-6.
 43. Pulido EJ, Shames BD, Fullerton DA, Sheridan BC, Selzman CH, Gamboni-Robertson F, Bensard DD, McIntyre RC Jr. Differential inducible nitric oxide synthase expression in systemic and pulmonary vessels after endotoxin. *Am Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000; 278(5):R1232-9.

44. Huang XL, Ling YQ, Zhu TN, Zhang JL, Ling YL. Multiple factors contributing to lipopolysaccharide-induced reactivity changes in rabbit pulmonary artery. *Sheng Li Xue Bao*. 2005; 57(6):737-41.
45. Bussolino F, Porcellini MG, Varese L, Bosia A. Intravascular release of platelet activating factor in children with sepsis. *Thromb Res*. 1987; 48(5):619-20.
46. Anderson BO, Bensard DD, Harken AH. The role of platelet activating factor and its antagonists in shock, sepsis and multiple organ failure. *Surg Gynecol Obstet*. 1991; 172(5):415-24.
47. Graham RM, Stephens CJ, Silvester W, Leong LL, Sturm MJ, Taylor RR. Plasma degradation of platelet-activating factor in severely ill patients with clinical sepsis. *Crit Care Med*. 1994; 22(2):204-12.
48. Giembycz MA, Kroegel C, Barnes PJ. Platelet activating factor stimulates cyclo-oxygenase activity in guinea pig eosinophils. Concerted biosynthesis of thromboxane A₂ and E-series prostaglandins. *J Immunol*. 1990; 144(9):3489-97.
49. Brauner JS, Rohde LE, Clausell N. Circulating endothelin-1 and tumor necrosis factor-alpha: early predictors of mortality in patients with septic shock. *Intensive Care Med*. 2000; 26(3):305-13.
50. Wanecek M, Oldner A, Rudehill A, Sollevi A, Alving K, Weitzberg E. Endothelin(A)-receptor antagonism attenuates pulmonary hypertension in porcine endotoxin shock. *Eur Respir J*. 1999; 13(1):145-51.

-
51. Hireallur SD, Detweiler ND, Haworth ST, Leming JT, Gordon JB, Rusch NJ. Furegrelate, a thromboxane synthase inhibitor, blunts the development of pulmonary arterial hypertension in neonatal piglets. *Pulm Circ.* 2012; 2(2):193-200.
 52. Kleinsasser A, Loeckinger A, Hoermann C, Puehringer F, Mutz N, Bartsch G, Lindner KH. Sildenafil modulates hemodynamics and pulmonary gas exchange. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163(2):339-43.
 53. Prasad S, Wilkinson J, Gatzoulis MA. Sildenafil in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 2000; 343(18):1342.
 54. Rabe KF, Tenor H, Dent G, Schudt C, Nakashima M, Magnussen H. Identification of PDE isozymes in human pulmonary artery and effect of selective PDE inhibitors. *Am J Physiol.* 1994; 266(5 Pt 1):L536-43.
 55. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F, Olschewski H, Schermuly RT, Weissmann N, Seeger W, Grimminger F. Combination therapy with oral sildenafil and inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *Ann Intern Med.* 2002; 136(7):515-22.
 56. Tantini B, Manes A, Fiumana E, Pignatti C, Guarnieri C, Zannoli R, Branzi A, Galié N. Antiproliferative effect of sildenafil on human pulmonary artery smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol.* 2005; 100(2):131-8.

-
57. Sastry BK, Narasimhan C, Reddy NK, Raju BS. Clinical efficacy of sildenafil in primary pulmonary hypertension: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 43(7):1149-53.
 58. Mikhail GW, Prasad SK, Li W, Rogers P, Chester AH, Bayne S, Stephens d, Khan M, Gibbs JS, Evans TW, Mitchell A, Yacoub MH, Gatzoulis MA. Clinical and haemodynamic effects of sildenafil in pulmonary hypertension: acute and mid-term effects. *Eur Heart J*. 2004; 25(5):431-6.
 59. Preston IR, Klinger JR, Houtches J, Nelson D, Farber HW, Hill NS. Acute and chronic effects of sildenafil in patients with pulmonary arterial hypertension. *Respir Med*. 2005; 99(12):1501-10.
 60. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, Fleming T, Parpia T, Burgess G, Branzi A, Grimminger F, Kurzyna M, Simonneau G, Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension (SUPER) Study Group. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2005; 353(20):2148-57.
 61. Jiang R, Wang L, Zhu CT, Yuan P, Pudasaini B, Zhao QH, Gong SG, He J, Liu JM, HU QH. Comparative effectiveness of sildenafil for pulmonary hypertension due to left heart disease with HFrEF. *Hypertens Res* 2015 Jul 23. doi: 10.1038/hr.2015.73. [Epub ahead of print].

-
62. Sharma VK, Joshi S, Joshi A, Kumar G, Arora H, Garg A. Does intravenous sildenafil clinically ameliorate pulmonary hypertension during perioperative management of congenital heart diseases in children? - A prospective randomized study. *Ann Car Anaesth*. 2015; 18(4):510-6.
 63. Haase E, Bigam DL, Cravetchi O, Cheung PY. Dose response of intravenous sildenafil on systemic and regional hemodynamics in hypoxic neonatal piglets. *Shock*. 2006; 26(1):99-106.
 64. Shekerdemian LS, Ravn HB, Penny DJ. Intravenous sildenafil lowers pulmonary vascular resistance in a model of neonatal pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 165(8):1098-102.
 65. Weimann J, Ullrich R, Hromi J, Fujino Y, Clark MW, Bloch KD, Zapol WM. Sildenafil is a pulmonary vasodilator in awake lambs with acute pulmonary hypertension. *Anesthesiology*. 2000; 92(6):1702-12.
 66. Gokakin AK, Deveci K, Kurt A, Karakus BC, Duger C, Tuzcu M, Topcy O. The protective effects of sildenafil in acute lung injury in a rat model of severe scald burn: A biochemical and histopathological study. *Burns*. 2013; 39(6):1193-9.
 67. Shih PK, Cheng CM, Li HP, Huang MF, Chiu CW, Chen JX, Chen NW, Chou SH. Pretreatment with sildenafil alleviates early lung ischemia-reperfusion injury in a rat model. *J Surg Res*. 2013; 185(2):e77-83.

-
68. Yildirim A, Ersoy Y, Ercan F, Atukeren P, Gumustas K, Uslu U, Alican I. Phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate in a rat model of bleomycin-induced lung fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2010; 23(3):215-21.
69. Klein A, Zils U, Bopp C, Gries A, Martin E, Gust R. Low-dose phosphodiesterase inhibition improves responsiveness to inhaled nitric oxide in isolated lungs from endotoxemic rats. *J Surg Res.* 2007; 138(2):224-30.
70. Cadirci E, Halici Z, Odabasoglu F, Albayrak A, Karakus E, Unal D, Atalay F, Ferah I, Unal B. Sildenafil treatment attenuates lung and kidney injury due to overproduction of oxidant activity in a rat model of sepsis: a biochemical and histopathological study. *Clin Exp Immunol.* 2011; 166(3):374-84.
71. Krebs J, Kolz A, Tsagogiorgas C, Pelosi P, Rocco PR, Luecke T. Effects of lipopolysaccharide-induced inflammation on initial lung fibrosis during open-lung mechanical ventilation in rats. *Respir Physiol Neurobiol.* 2015; 212-214:25-32.
72. Schmidhammer R, Wassermann E, Germann P, Redl H, Ullrich R. Infusion of increasing doses of endotoxin induces progressive acute lung injury but prevents early pulmonary hypertension in pigs. *Shock.* 2006; 25(4):389-94.

-
73. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008; 295(3):L379-99.
 74. Lipcsey M, Larsson A, Eriksson MB, Sjölin J. Effect of the administration rate on the biological responses to a fixed dose of endotoxin in the anesthetized pig. *Shock*. 2008; 29(2):173-80.
 75. Wanecek M, Oldner A, Rudehill A, Sollevi A, Alving K, Weitzberg E. Cardiopulmonary dysfunction during porcine endotoxin shock is effectively counteracted by the endothelin receptor antagonist bosentan. *Shock*. 1997; 7(5):364-70.
 76. Persson BP, Boels PJ, Lovdahl C, Rossi P, Arner A, Oldner A. Endotoxin induces differentiated contractile responses in porcine pulmonary arteries and veins. *J Vasc Res*. 2011; 48(3):206-18.
 77. Bhatia S, Frantz RP, Severson CJ, Durst LA, McGoon MD. Immediate and long-term hemodynamic and clinical effects of sildenafil in patients with pulmonary arterial hypertension receiving vasodilator therapy. *Mayo Clin Proc*. 2003; 78(10):1207-13.
 78. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F, Schermuly RT, Olschewski H, Weissmann N, Gunther A, Walmrath D, Seeger W, Grimminger F. Sildenafil for treatment of lung fibrosis and pulmonary hypertension: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002; 360(9337):895-900.

79. Kloner RA. Cardiovascular effects of the 3 phosphodiesterase-5 inhibitors approved for the treatment of erectile dysfunction. *Circulation*. 2004; 110(19):3149-55.
80. Petros A, Bennett D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet*. 1991; 338(8782-8783):1557-8.
81. Binns-Loveman KM, Kaplowitz MR, Fike CD. Sildenafil and an early stage of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in newborn piglets. *Pediatr Pulmonol*. 2005; 40(1):72-80.
82. Daudel F, Tuller D, Krahenbuhl S, Jakob SM, Takala J. Pulse pressure variation and volume responsiveness during acutely increased pulmonary artery pressure: an experimental study. *Crit Care*. 2010; 14(3):R122.
83. Ghofrani HA, Rose F, Schermuly RT, Olschewski H, Wiedemann R, Kreckel A, Weissmann N, Ghofrani S, Enke B, Seeger W, Grimminger F. Oral sildenafil as long-term adjunct therapy to inhaled iloprost in severe pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 42(1):158-64.
84. Sastry BK, Narasimhan C, Reddy NK, Anand B, Prakash GS, Raju PR, Kumar DN. A study of clinical efficacy of sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Indian Heart J*. 2002; 54(4):410-4.

-
85. Kothari SS, Duggal B. Chronic oral sildenafil therapy in severe pulmonary artery hypertension. *Indian Heart J.* 2002; 54(4):404-9.
 86. Ryhammer PK, Shekerdemian LS, Penny DJ, Ravn HB. Effect of intravenous sildenafil on pulmonary hemodynamics and gas exchange in the presence and absence of acute lung injury in piglets. *Pediatr Res.* 2006; 59(6):762-6.
 87. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, Damske BA, Parrillo JE. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med.* 1984; 100(4):483-90.
 88. Orde SR, Pulido JN, Masaki M, Gillespie S, Spoon JN, Kane GC, Oh JK. Outcome prediction in sepsis: speckle tracking echocardiography based assessment of myocardial function. *Crit Care.* 2014; 18(4):R149.
 89. Chin KM, Kim NH, Rubin LJ. The right ventricle in pulmonary hypertension. *Coron Artery Dis.* 2005; 16(1):13-8.
 90. Woods J, Monteiro P, Rhodes A. Right ventricular dysfunction. *Curr Opin Crit Care.* 2007; 13(5):532-40.
 91. Wyns H, Plessers E, De Backer P, Meyer E, Croubels S. In vivo porcine lipopolysaccharide inflammation models to study immunomodulation of drugs. *Vet Immunol Immunopathol.* 2015; 166(3-4):58-69.

-
92. Tsai BM, Turrentine MW, Sheridan BC, Wang M, Fiore AC, Brown JW, Meldrum DR. Differential effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary artery cytokine expression. *Ann Thorac Surg*. 2006; 81(1):272-8.
 93. Clayton RA, Dick CA, Mackenzie A, Nagasawa M, Galbraith D, Hastings SF, MacKewnzie SJ. The effect of selective phosphodiesterase inhibitors, alone and in combination, on a murine model of allergic asthma. *Respir Res*. 2004; 5:4.
 94. Heresi GA, Tang WH, Aytakin M, Hammel J, Hazen SL, Dweik RA. Sensitive cardiac troponin I predicts poor outcomes in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*. 2012; 39(4):939-44.
 95. Velez-Martinez M, Ayers C, Mishkin JD, Bartolome SB, Garcia CK, Torres F, Drazner MH, de Lemos JA, Turer AT, Chin KM. Association of cardiac troponin I with disease severity and outcomes in patients with pulmonary hypertension. *Am J Cardiol*. 2013; 111(12):1812-7.
 96. Siore AM, Parker RE, Stecenko AA, Cuppels C, McKean M, Christman BW, Cruz-Gervis R, Brigham KL. Endotoxin-induced acute lung injury requires interaction with the liver. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005; 289(5):L769-76.

97. Kiss T, Kovacs K, Komocsi A, Tornyos A, Zalan P, Sumegi B, Gallyas F Jr, Kovacs K. Novel mechanisms of sildenafil in pulmonary hypertension involving cytokines/chemokines, MAP kinases and Akt. *PloS One*. 2014; 9(8):e104890.
98. Wyns H, Plessers E, De Backer P, Meyer E, Croubels S. In vivo porcine lipopolysaccharide inflammation models to study immunomodulation of drugs. *Veterinary Immunol Immunopathol*. 2015; 166(3-4):58-69.