

Efeito do tramadol na lesão pulmonar induzida por isquemia-reperfusão de músculo esquelético: um estudo experimental*

Effect of tramadol on lung injury induced by skeletal muscle ischemia-reperfusion: an experimental study

Mohammad Ashrafzadeh Takhtfooladi, Amirali Jahanshahi, Amir Sotoudeh, Gholamreza Jahanshahi, Hamed Ashrafzadeh Takhtfooladi, Kimia Aslani

Resumo

Objetivo: Investigar se o tramadol tem um efeito protetor contra a lesão pulmonar induzida por isquemia-reperfusão de músculo esquelético. **Métodos:** Vinte ratos Wistar machos foram divididos em dois grupos: grupo isquemia-reperfusão (IR) e grupo isquemia-reperfusão + tramadol (IR+T). Os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina (i.m., 50 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente). Todos os animais foram submetidos a 2 h de isquemia por oclusão da artéria femoral e 24 h de reperfusão. Antes da oclusão da artéria femoral, foram administrados 250 UI de heparina pela veia jugular para impedir a coagulação. Os ratos do grupo IR+T foram tratados com tramadol (20 mg/kg i.v.) imediatamente antes da reperfusão. Após o período de reperfusão, os animais foram sacrificados com pentobarbital (300 mg/kg i.p.), os pulmões foram removidos cuidadosamente, e os espécimes foram preparados adequadamente para estudos histopatológicos e bioquímicos. **Resultados:** A atividade de mieloperoxidase e os níveis de óxido nítrico foram significativamente maiores no grupo IR que no grupo IR+T ($p = 0,001$ para ambos). Anormalidades histológicas, como edema intra-alveolar, hemorragia intra-alveolar e infiltração neutrofílica, foram significativamente mais frequentes no grupo IR que no grupo IR+T. **Conclusões:** Com base nos resultados histológicos e bioquímicos deste estudo, concluímos que o tramadol tem um efeito protetor contra o dano ao tecido pulmonar após isquemia-reperfusão de músculo esquelético.

Descritores: Tramadol; Músculo esquelético; Ataque isquêmico transitório; Lesão pulmonar.

Abstract

Objective: To determine whether tramadol has a protective effect against lung injury induced by skeletal muscle ischemia-reperfusion. **Methods:** Twenty Wistar male rats were allocated to one of two groups: ischemia-reperfusion (IR) and ischemia-reperfusion + tramadol (IR+T). The animals were anesthetized with intramuscular injections of ketamine and xylazine (50 mg/kg and 10 mg/kg, respectively). All of the animals underwent 2-h ischemia by occlusion of the femoral artery and 24-h reperfusion. Prior to the occlusion of the femoral artery, 250 IU heparin were administered via the jugular vein in order to prevent clotting. The rats in the IR+T group were treated with tramadol (20 mg/kg i.v.) immediately before reperfusion. After the reperfusion period, the animals were euthanized with pentobarbital (300 mg/kg i.p.), the lungs were carefully removed, and specimens were properly prepared for histopathological and biochemical studies. **Results:** Myeloperoxidase activity and nitric oxide levels were significantly higher in the IR group than in the IR+T group ($p = 0.001$ for both). Histological abnormalities, such as intra-alveolar edema, intra-alveolar hemorrhage, and neutrophil infiltration, were significantly more common in the IR group than in the IR+T group. **Conclusions:** On the basis of our histological and biochemical findings, we conclude that tramadol prevents lung tissue injury after skeletal muscle ischemia-reperfusion.

Keywords: Tramadol; Muscle, skeletal; Ischemic attack, transient; Lung Injury.

*Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciência Veterinária Especializada, Divisão de Ciência e Pesquisa, Universidade Azad Islâmica, Hesarak, Teerã, Irã.

Tel. 00989121590428. E-mail: dr_ashrafzadeh@yahoo.com

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 5/12/2012. Aprovado, após revisão, em 14/5/2013.

Introdução

A lesão de isquemia-reperfusão é um dos tipos mais comuns de lesão celular que ocorre em uma variedade de práticas cirúrgicas. A reperfusão de órgãos isquêmicos pode resultar em lesão tecidual, que se manifesta como disfunção celular microvascular e parenquimatosa. Os mecanismos subjacentes à lesão de isquemia-reperfusão já foram descritos; apontou-se que leucócitos polimorfonucleares e metabólitos reativos de oxigênio desempenham um papel fundamental na etiologia.⁽¹⁻³⁾

A isquemia-reperfusão de músculo esquelético resultante de trauma, revascularização de membros, cirurgia ortopédica, reconstrução com retalho livre ou qualquer outra etiologia não só conduz a lesão muscular propriamente dita, mas também provoca lesões com grave destruição de órgãos remotos. Consideráveis avanços têm sido feitos na compreensão dos mecanismos dessa resposta sistêmica no tocante à sequência da isquemia-reperfusão de músculo esquelético. Órgãos remotos com sistemas microcapilares intensos, tais como os pulmões, são propensos a apresentar esse tipo de lesão sistêmica.^(3,4)

Vários investigadores têm demonstrado que a via opioide está envolvida na preservação dos tecidos durante a hipóxia ou isquemia, e essa proteção é mediada pelo receptor opioide delta.^(5,6) O cloridrato de tramadol é um analgésico eficaz usado para condições graves de dor aguda e crônica. Há uma afinidade fraca entre o cloridrato de tramadol e o receptor opioide μ , e aquele inibe a recaptação de monoaminas no sistema nervoso central, ativando assim os sistemas inibitórios descendentes.^(7,8) Um estudo recente revelou que o tramadol diminui a peroxidação lipídica e regula a captação de noradrenalina, e, por conseguinte, essas propriedades terapêuticas são usadas para o manejo da isquemia miocárdica.⁽⁹⁾

O objetivo do presente estudo foi investigar o potencial efeito protetor do cloridrato de tramadol na lesão de isquemia-reperfusão pulmonar, induzida pelo modelo do membro posterior, por meio de avaliação histopatológica e determinação das respostas inflamatórias por via da atividade de mieloperoxidase (MPO) e dos níveis de óxido nítrico (NO) no tecido pulmonar de ratos.

Métodos

Todos os animais usados na presente pesquisa foram tratados de maneira apropriada, em

conformidade com as normas do Laboratório de Experimentação Animal da Faculdade de Ciências Veterinárias Especializadas da Universidade Azad Islâmica, em Teerã, no Irã. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Departamento de Cirurgia Veterinária da universidade.

Vinte ratos Wistar machos pesando 250-300 g (com 12-15 semanas de idade) foram usados no presente estudo. Todos os ratos foram mantidos em temperatura ambiente constante e condições padronizadas, com água e ração comercial *ad libitum*, e colocados em gaiolas individuais de plástico com fundo macio. Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos experimentais de dez animais cada: grupo isquemia-reperfusão (IR) e grupo isquemia-reperfusão + tramadol (IR+T). A anestesia foi induzida com cetamina e xilazina (i.m., 50 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente). Após a indução da anestesia, o membro posterior esquerdo foi completamente comprimido. Após termos comprimido, desinfetado e soltado o membro posterior esquerdo, fizemos uma incisão cutânea em sua superfície medial. A artéria femoral e a veia femoral foram isoladas dos tecidos circundantes, e a artéria femoral foi exposta e pinçada com uma minipinça buldogue. Antes da oclusão da artéria femoral, foram administrados 250 UI de heparina pela veia jugular, a fim de impedir a coagulação. Todos os animais foram submetidos a 2 h de isquemia (por meio da oclusão da artéria femoral com uma pinça vascular) e 24 h de reperfusão. Os animais foram mantidos em decúbito dorsal e permaneceram anestesiados ao longo de todo o período isquêmico. Doses adicionais dos anestésicos foram dadas conforme necessário a fim de manter a anestesia durante o experimento. A temperatura corporal foi mantida com uma almofada de aquecimento, sob anestesia. Os animais do grupo IR+T receberam tramadol i.v. (20 mg/kg)⁽¹⁰⁾ imediatamente antes da reperfusão. Após o período isquêmico, a pinça vascular foi removida, e o sítio cirúrgico foi fechado de modo rotineiro. Após a cirurgia, as perdas de fluido foram repostas por meio de administração intraperitoneal de 5 mL de solução salina isotônica morna, e os ratos foram devolvidos a suas gaiolas, com ração comercial e água *ad libitum* durante o período de reperfusão. Após 24 horas de reperfusão, os ratos foram sacrificados

por meio de injeção intraperitoneal de uma superdose de pentobarbital (300 mg/kg), e os pulmões esquerdos foram colhidos e fixados em formaldeído a 10% para exame histopatológico por meio de microscopia de luz. Os pulmões direitos foram removidos e armazenados a -20°C para análise. As amostras de tecido pulmonar homogeneizado e sobrenadante foram preparadas conforme descrito por Yildirim et al.⁽¹¹⁾

O ensaio bioquímico consistiu na determinação da atividade de MPO e dos níveis de NO no tecido pulmonar. A atividade de MPO⁽¹²⁾ foi analisada espectrofotometricamente, conforme descrito anteriormente, ao passo que os níveis de NO no tecido pulmonar foram medidos por meio da reação de Griess.⁽¹³⁾

Todas as amostras de tecido pulmonar esquerdo foram fixadas em solução de formalina a 10% e processadas de modo rotineiro (incluídas em blocos de parafina, com a região anterior do pulmão cortada em seções de $6\ \mu\text{m}$, e coradas com H&E). A gravidade da lesão pulmonar foi determinada por um patologista que não estava ciente do experimento. A lesão pulmonar foi classificada em quatro níveis, a saber: nível 0, sem alteração diagnóstica; nível 1, leve infiltração de neutrófilos e congestão intersticial de leve a moderada; nível 2, moderada infiltração de neutrófilos, formação de edema perivascular e destruição parcial da arquitetura pulmonar; nível 3, densa infiltração de neutrófilos e destruição completa da estrutura pulmonar.⁽¹⁴⁾ Quatro lâminas de cada amostra de pulmão foram avaliadas de forma aleatória, e o nível médio foi considerado representativo da amostra.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 11.2 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). A distribuição dos grupos foi analisada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov para uma amostra. Os resultados bioquímicos apresentaram distribuição normal, e a ANOVA de fator único foi usada. Os resultados histopatológicos foram analisados por meio do teste de Kruskal-Wallis e do teste U de Mann-Whitney. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados

Todos os ratos sobreviveram ao período de estudo.

No tocante aos resultados bioquímicos, os níveis de NO foram significativamente maiores nos pulmões dos ratos do grupo IR que nos dos ratos

do grupo IR+T ($p = 0,001$; Figura 1). Do mesmo modo, a atividade de MPO, um novo indicador de função neutrofílica, foi significativamente maior no grupo IR que no grupo IR+T ($p = 0,001$; Figura 2).

A Figura 3 mostra uma fotomicrografia representativa do tecido pulmonar dos ratos do grupo IR 24 h após a reperfusão. As alterações histológicas no grupo IR incluíram edema intra-alveolar, hemorragia intra-alveolar, e infiltração de neutrófilos. O nível médio de lesão pulmonar no grupo IR foi de $2,10 \pm 0,89$. Essas alterações patológicas, particularmente a infiltração de neutrófilos, foram muito menos comuns no grupo IR+T (Figura 4). Um animal do grupo IR+T não apresentou lesão, ao passo que o nível de lesão pulmonar nos outros animais variou de 1 a 2 (média: $1,70 \pm 0,23$). Histopatologicamente, houve uma diferença significativa entre os dois grupos ($p = 0,035$).

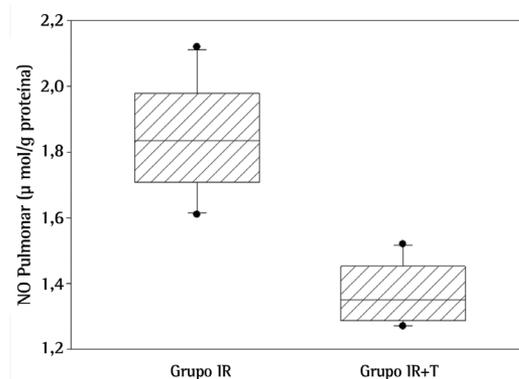


Figura 1 - Níveis de óxido nítrico (NO) no tecido pulmonar entre os grupos estudados ($p = 0,001$). IR: isquemia-reperfusão; e IR+T: isquemia-reperfusão + tramadol.

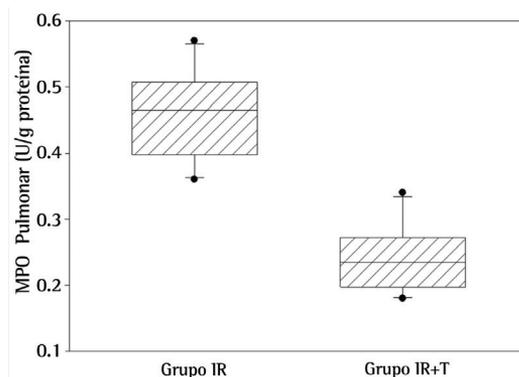


Figura 2 - Atividade de mieloperoxidase (MPO) no tecido pulmonar entre os grupos estudados ($p = 0,001$). IR: isquemia-reperfusão; e IR+T: isquemia-reperfusão + tramadol.

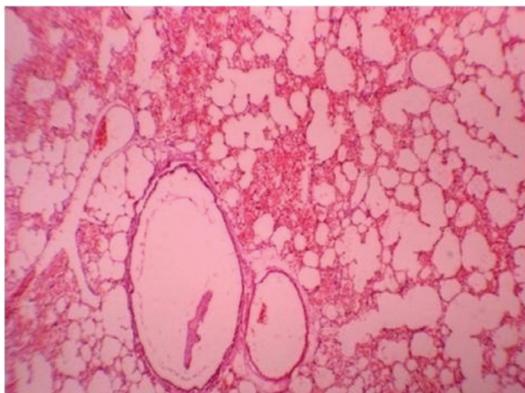


Figura 3 - Fotomicrografia por microscopia de luz. Tecido pulmonar de um rato do grupo isquemia-reperfusão mostrando hemorragia intra-alveolar extensa (H&E; aumento, 40x).

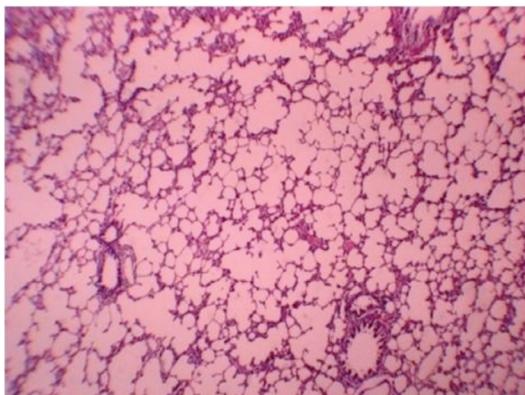


Figura 4 - Fotomicrografia por microscopia de luz. Tecido pulmonar de um rato do grupo isquemia-reperfusão + tramadol mostrando menos alterações histológicas e estruturas mais bem preservadas, praticamente normais (H&E; aumento, 40x).

Discussão

O pulmão é um dos órgãos-alvo mais importantes na síndrome de disfunção de múltiplos órgãos ou falência de múltiplos órgãos e sistemas causada por lesão grave. Os pulmões podem ser danificados por lesões indiretas causadas pela reperfusão do intestino, fígado e músculo esquelético, bem como por choque circulatório.^(15,16) O mecanismo de insuficiência respiratória após a lesão de isquemia-reperfusão é um processo complexo, que está associado à ativação de mediadores inflamatórios sistêmicos, incluindo toxinas bacterianas, imunocitocinas, e mediadores inflamatórios, tais como TNF e interleucinas.^(17,18) Tanto o TNF como o NO são determinantes importantes do processo de lesão pulmonar, que é causado por isquemia-reperfusão de membros inferiores,^(19,20) ao passo que a MPO é

um índice para a acumulação de leucócitos ativados em tecidos e está associada à superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO); por conseguinte, a acumulação de leucócitos, a grande atividade de MPO e a produção excessiva de ERO coexistem no processo inflamatório. A superprodução de ERO resulta em rápida depleção da capacidade antioxidante do corpo, o que consequentemente leva à lesão de órgãos-alvo.^(21,22)

Estudos com animais mostraram que os opioides podem agir como um gatilho para ambas as fases do pré-condicionamento isquêmico,⁽²³⁾ e a serotonina aumenta⁽²⁴⁾ ou atenua⁽²⁵⁾ esse fenômeno, dependendo da concentração. Mayfield et al.⁽⁶⁾ e Chien et al.⁽⁵⁾ demonstraram que a via opioide está envolvida na preservação dos tecidos durante a hipóxia ou isquemia. Provou-se que a morfina tem efeitos cardioprotetores durante a isquemia-reperfusão.^(26,27) Fatores como a depressão respiratória e a liberação de histamina são as desvantagens do uso de morfina no pós-operatório.⁽²⁸⁾ O tramadol é um analgésico de ação central com ação depressora respiratória insignificante, tolerância muito baixa e tendência a dependência física. O tramadol (10 e 20 mg/kg) teve efeito protetor contra isquemia transitória do prosencéfalo em ratos.⁽¹⁰⁾ No presente estudo, testamos a hipótese de que 20 mg/kg de tramadol poderiam proteger os pulmões de lesões de órgãos remotos após a isquemia-reperfusão de músculo esquelético. Doses maiores de tramadol devem ser investigadas a fim de determinar se teriam um efeito protetor maior.

O presente estudo, em conformidade com estudos anteriores,⁽²⁹⁻³¹⁾ confirmou que a isquemia-reperfusão de membros inferiores pode induzir lesão pulmonar aguda em ratos. Nós demonstramos que a lesão pulmonar aguda induzida por isquemia-reperfusão de membro inferior pode ser atenuada pelo tramadol. Nossos dados demonstram que o tramadol reduz significativamente a gravidade da lesão pulmonar aguda, a infiltração de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares nos pulmões, a permeabilidade vascular pulmonar e a hemorragia intra-alveolar, além de inibir a apoptose celular nos pulmões após a lesão de isquemia-reperfusão de músculo esquelético. Esses resultados sugerem a possibilidade de aplicação clínica do tramadol na lesão de isquemia-reperfusão do pulmão. Estudos futuros devem investigar doses diferentes, protocolos de tempo alternativos e formas de administração do tramadol para lesão pulmonar induzida por isquemia-reperfusão de músculo esquelético.

Referências

- Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. *Am J Med Sci.* 1994;307(4):284-92. <http://dx.doi.org/10.1097/00000441-199404000-00009>
- Atahan E, Ergun Y, Belge Kurutas E, Cetinus E, Guney Ergun U. Ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle is attenuated by zinc aspartate. *J Surg Res.* 2007;137(1):109-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2006.05.036> PMID:17112542
- Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg.* 1991;78(6):651-5. <http://dx.doi.org/10.1002/bjs.1800780607> PMID:2070226
- Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med.* 1993;21(9):1376-86. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-199309000-00023>
- Chien S, Oeltgen PR, Diana JN, Salley RK, Su TP. Extension of tissue survival time in multiorgan block preparation with a delta opioid DADLE ([D-Ala2, D-Leu5]-enkephalin). *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;107(3):964-7. PMID:8127138
- Mayfield KP, D'Alecy LG. Delta-1 opioid receptor dependence of acute hypoxic adaptation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;268(1):74-7. PMID:8301596
- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;260(1):275-85. PMID:1309873
- Driessen B, Reimann W, Giertz H. Effects of the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenaline and dopamine in vitro. *Br J Pharmacol.* 1993;108(3):806-11. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.1993.tb12882.x> PMID:8467366 PMID:1908052
- Bilir A, Erkasap N, Koken T, Gulec S, Kaygisiz Z, Tanriverdi B, et al. Effects of tramadol on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Scand Cardiovasc J.* 2007;41(4):242-7. <http://dx.doi.org/10.1080/14017430701227747> PMID:17680512
- Nagakannan P, Shivasharan BD, Thippeswamy BS, Veerapur VP. Effect of tramadol on behavioral alterations and lipid peroxidation after transient forebrain ischemia in rats. *Toxicol Mech Methods.* 2012;22(9):674-8. <http://dx.doi.org/10.3109/15376516.2012.716092> PMID:22871232
- Yildirim Z, Kotuk M, Erdogan H, Iraz M, Yagmurca M, Kuku I, et al. Preventive effect of melatonin on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *J Pineal Res.* 2006;40(1):27-33. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2005.00272.x> PMID:16313495
- Wei H, Frenkel K. Relationship of oxidative events and DNA oxidation in SENCAR mice to in vivo promoting activity of phorbol ester-type tumor promoters. *Carcinogenesis.* 1993;14(6):1195-201. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/14.6.1195>
- Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 1990;36(8 Pt 1):1440-3. PMID:2387039
- Koksel O, Yildirim C, Cinel L, Tamer L, Ozdulger A, Bastürk M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates lung tissue damage after hind limb ischemia-reperfusion in rats. *Pharmacol Res.* 2005;51(5):453-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2004.11.007> PMID:15749460
- Rotstein OD. Pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome: gut origin, protection, and decontamination. *Surg Infect (Larchmt).* 2000;1(3):217-23; discussion 223-5. <http://dx.doi.org/10.1089/109629600750018141> PMID:12594892
- Zhou JL, Zhu XG, Ling T, Zhang JQ, Chang JY. Effect of endogenous carbon monoxide on oxidant-mediated multiple organ injury following limb ischemia-reperfusion in rats [Article in Chinese]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2002;16(4):273-6. PMID:12181797
- Ishii H, Ishibashi M, Takayama M, Nishida T, Yoshida M. The role of cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 in neutrophil-mediated remote lung injury after intestinal ischaemia/reperfusion in rats. *Respirology.* 2000;5(4):325-31. PMID:11192542
- Souza DG, Cassali GD, Poole S, Teixeira MM. Effects of inhibition of PDE4 and TNF-alpha on local and remote injuries following ischaemia and reperfusion injury. *Br J Pharmacol.* 2001;134(5):985-94. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0704336> PMID:11682446 PMID:1573029
- Welbourn R, Goldman G, O'Riordain M, Lindsay TF, Paterson IS, Kobzik L, et al. Role for tumor necrosis factor as mediator of lung injury following lower torso ischemia. *J Appl Physiol.* 1991;70(6):2645-9. PMID:1885460
- Tassiopoulos AK, Carlin RE, Gao Y, Pedoto A, Finck CM, Landas SK, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities. *J Vasc Surg.* 1997;26(4):647-56. [http://dx.doi.org/10.1016/S0741-5214\(97\)70065-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0741-5214(97)70065-X)
- Crinnion JN, Homer-Vanniasinkam S, Gough MJ. Skeletal muscle reperfusion injury: pathophysiology and clinical considerations. *Cardiovasc Surg.* 1993;1(4):317-24. PMID:8076053
- Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000;190(3):255-66. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6)
- Fryer RM, Hsu AK, Eells JT, Nagase H, Gross GJ. Opioid-induced second window of cardioprotection: potential role of mitochondrial KATP channels. *Circ Res.* 1999;84(7):846-51. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.84.7.846> PMID:10205153
- Nebigil CG, Etienne N, Messaddeq N, Maroteaux L. Serotonin is a novel survival factor of cardiomyocytes: mitochondria as a target of 5-HT2B receptor signaling. *FASEB J.* 2003;17(10):1373-5. PMID:12738797
- Bianchi P, Pimentel DR, Murphy MP, Colucci WS, Parini A. A new hypertrophic mechanism of serotonin in cardiac myocytes: receptor-independent ROS generation. *FASEB J.* 2005;19(6):641-3. PMID:15703274
- Groban L, Vernon JC, Butterworth J. Intrathecal morphine reduces infarct size in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Anesth Analg.* 2004;98(4):903-9. <http://dx.doi.org/10.1213/01.ANE.0000105878.96434.05> PMID:15041570
- McPherson BC, Yao Z. Signal transduction of opioid-induced cardioprotection in ischemia-reperfusion. *Anesthesiology.* 2001;94(6):1082-8. <http://dx.doi.org/10.1097/00000542-200106000-00024>
- Ellmauer S, Dick W, Otto S, Müller H. Different opioids in patients at cardiovascular risk. Comparison of central and peripheral hemodynamic adverse effects [Article in German]. *Anaesthesist.* 1994;43(11):743-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s001010050117> PMID:7840403
- Yassin MM, Barros D'Sa AA, Parks G, Abdulkadir AS, Halliday I, Rowlands BJ. Mortality following lower limb ischemia-reperfusion: a systemic inflammatory response? *World J Surg.* 1996;20(8):961-6; discussion 966-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s002689900144> PMID:8798348

30. Yassin MM, Harkin DW, Barros D'Sa AA, Halliday MI, Rowlands BJ. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg.* 2002;26(1):115-21. <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-001-0169-2> PMID:11898044
31. Sirmali M, Uz E, Sirmali R, Kilbaş A, Yılmaz HR, Ağaçkiran Y, et al. The effects of erosteine on lung injury induced by the ischemia-reperfusion of the hind-limbs in rats. *J Surg Res.* 2008;145(2):303-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2007.02.027> PMID:17574582

Sobre os autores

Mohammad Ashrafzadeh Takhtfooladi

Doutor. Departamento de Cirurgia, Faculdade de Ciência Veterinária Especializada, Divisão de Ciência e Pesquisa, Universidade Azad Islâmica, Teerã, Irã.

Amirali Jahanshahi

Doutor. Departamento de Cirurgia, Faculdade de Ciência Veterinária Especializada, Divisão de Ciência e Pesquisa, Universidade Azad Islâmica, Teerã, Irã.

Amir Sotoudeh

Professor Assistente. Faculdade de Ciência Veterinária, Unidade Kahnooj, Universidade Azad Islâmica, Kerman, Irã.

Gholamreza Jahanshahi

Professor Associado. Departamento de Patologia Oral Et Maxilofacial, Faculdade de Odontologia, Universidade de Ciências Médicas de Isfahan, Isfahan, Irã.

Hamed Ashrafzadeh Takhtfooladi

Pós-Graduando. Faculdade de Ciência Veterinária, Unidade Karaj, Universidade Azad Islâmica, Alborz, Irã.

Kimia Aslani

Pós-Graduando. Faculdade de Ciência Veterinária, Divisão de Ciência e Pesquisa, Universidade Azad Islâmica, Teerã, Irã.