

# MODELO EXPERIMENTAL INVIÁVEL DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA NORMOTÉRMICA EM RATOS UTILIZANDO A MANOBRA DE PRINGLE

*Unfeasible experimental model of normothermic hepatic ischemia and reperfusion in rats using the Pringle maneuver*

Helbert Minuncio Pereira **GOMES**, Leonardo Carvalho **SERIGIOLLE**, Daren Athiê Boy **RODRIGUES**,  
Carolina Marques **LOPES**, Sarah do Valle **STUDART**, Pedro Luiz Squilacci **LEME**

Trabalho realizado no Laboratório de Habilidades Cirúrgicas Avançadas da Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP, Brasil.

**DESCRIPTORIOS** - Modelos animais. Má conduta científica. Fígado/cirurgia. Veia porta. Traumatismo por reperfusão.

## Correspondência:

Helbert Minuncio Pereira Gomes  
E-mail: helbert\_mpg@hotmail.com

Fonte de financiamento: não há  
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 27/02/2014  
Aceito para publicação: 13/05/2014

**HEADINGS** - Models, animal. Scientific misconduct. Liver/surgery. Portal vein. Reperfusion injury.

**RESUMO – Racional:** O resultado negativo de uma pesquisa nem sempre indica falha, e quando os dados obtidos não permitem uma conclusão adequada, ou ainda, são contrários ao projeto inicial, não devem simplesmente ser desprezados e arquivados. **Objetivo:** Relatar falha ao realizar em animais de pequeno porte modelo experimental de isquemia e reperfusão hepática normotérmica, contínua ou intermitente, visando estudar parâmetros bioquímicos e histológicos após a recuperação pós-operatória. **Métodos:** Quinze ratos da linhagem Wistar foram divididos em três grupos com cinco animais cada; todos foram operados, a cavidade abdominal foi suturada após os procedimentos propostos para cada grupo e os ratos foram observados por 6 h ou até morrerem, quando foram reoperados. Foram realizados no Grupo 1, controle (sham-operated): dissecação do hilo hepático; no Grupo 2: pinçamento do hilo hepático por 30 m; no Grupo 3: pinçamento do hilo hepático por 15 m, reperfusão do fígado por 5 m e mais 15 m de pinçamento. Os dados dos grupos 2 e 3 foram comparados com o teste t de Student. **Resultados:** Todos os animais do Grupo 1 sobreviveram 6 h. Dois do Grupo 2 morreram antes das 6 h necessárias para a validação do experimento, dois não se recuperaram da primeira anestesia e um sobreviveu até o final. No Grupo 3, quatro animais morreram antes das 6 h previstas e um sobreviveu o tempo necessário. Apenas um animal do Grupo 2 e um do Grupo 3 sobreviveu ou se encontrava em condições para a complementação do estudo. Não houve significância estatística quando os resultados dos Grupos 2 e 3 foram comparados ( $p > 0,05$ ). **Conclusão:** A morte de seis animais antes do período de observação necessário após a primeira operação inviabilizou a proposta inicial do experimento.

**ABSTRACT – Background:** The negative result of a research does not always indicate failure, and when the data do not permit a proper conclusion, or are contrary to the initial project, should not simply be discarded and archived. **Aim:** To report failure after performing experimental model of liver ischemia and reperfusion normothermic, continuous or intermittent, in small animals aiming at the study of biochemical and histological parameters after postoperative recovery. **Methods:** Fifteen Wistar rats were divided into three groups of five animals each; all underwent surgery, the abdomen was sutured after the proposed procedures for each group and the animals were observed for 6 h or until they died, and then were reoperated. In Group 1, control (sham-operated): dissection of the hepatic hilum was performed; in Group 2: clamping of the hepatic hilum for 30 m; in Group 3: clamping of the hepatic hilum for 15 m, reperfusion for 5 m and another 15 m of clamping. Data from Groups 2 and 3 were compared with Student's t test. **Results:** All animals of Group 1 survived for 6 h. Two animals in Group 2 died before the 6 h needed to validate the experiment; two did not recover from anesthesia and one survived until the end. In Group 3, four animals died before the 6 h established and one of them survived the required time. Only one animal in Group 2 and one in Group 3 survived and were able to accomplish the study. There was no statistical significance when the results of Groups 2 and 3 were compared ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** The death of six animals before the necessary period of observation turned the initial proposal of the experiment unfeasible.

## INTRODUÇÃO

Embora em publicações científicas de língua Inglesa sejam apresentados com maior frequência resultados não esperados obtidos com experimentos, existem poucos destes relatos em publicações nacionais. O resultado negativo de uma pesquisa nem sempre indica falha e, quando os dados obtidos não permitem uma conclusão adequada, ou ainda, são contrários ao projeto inicial, não devem simplesmente ser desprezados e arquivados. O aprendizado com possíveis erros, evitando que outros pesquisadores repitam o mesmo método de estudo, justifica a publicação de resultados desfavoráveis, prática que deve ser estimulada<sup>2,20,25</sup>.

Em 1908 James Hogarth Pringle<sup>21</sup> descreveu a manobra que hoje leva seu nome, comprimindo as estruturas do hilo hepático (veia porta, artéria hepática e ducto biliar), para diminuir o sangramento e permitir o tratamento de lesões traumáticas graves de oito doentes. Esta tática de grande valia é utilizada no trauma hepático, na realização de operações eletivas do fígado e na cirurgia experimental com resultados satisfatórios. Habitualmente é realizada em humanos com períodos de 15 m de pinçamento da tríade portal, intercalados com 5 m de reperfusão em doentes com função hepática normal e

com 10 m de oclusão vascular intercalados com os mesmos 5 m de reperfusão quando a função hepática é comprometida<sup>28</sup>.

Modelos experimentais podem ser desenvolvidos com esta manobra, que produz isquemia intermitente do tecido hepático, assim como congestão venosa nos vasos esplâncnicos e isquemia intestinal, com acidose metabólica significativa, sendo útil para o estudo do choque<sup>9,10</sup>. Como as veias do sistema digestório drenam principalmente para o sistema porta, podem ser encontradas alterações também no intestino, no baço<sup>10</sup> e no pâncreas<sup>29</sup>. Estudos em ratos habitualmente são realizados apenas até o final do período proposto para a isquemia e reperfusão, não sendo prevista a sobrevivência dos animais após a realização da manobra de Pringle com coleta de dados após algumas horas de reperfusão. Quando a sobrevivência é necessária, geralmente são empregados animais de maior porte, como os coelhos<sup>14,21</sup>.

Os estudos motivados pelo desenvolvimento dos transplantes hepáticos passaram a utilizar a denominação isquemia e reperfusão a partir dos anos 1980. As lesões nesta situação ocorrem com maior intensidade quando o órgão isquêmico recebe aporte de oxigênio<sup>3,8,18,22,23,29</sup>; este fenômeno corresponde à mobilização de íons hidrogênio, radicais livres, enzimas e eletrólitos como o potássio, que alcançam a circulação sistêmica quando os tecidos isquêmicos são rapidamente reperfundidos, com repercussões significativas<sup>8,12</sup>. Após a reperfusão ocorrem fenômenos sistêmicos dependentes de leucócitos e radicais livres, que englobam disfunção endotelial, lesões de outros órgãos além do inicialmente comprometido, reação inflamatória sistêmica (SIRS) e falência de múltiplos órgãos. A lesão à distância deve-se aos mediadores de estresse oxidativo, derivados do ácido aracônico, metais e óxido nítrico, representando um campo de estudo experimental extenso<sup>3,5,18</sup>.

Assim, o relato da falha ao se desenvolver um modelo experimental deve ser considerado importante, uma vez que estes dados podem auxiliar outros pesquisadores, evitando perda de tempo com modelos já testados, bem como podem ser respeitados os preceitos de uso racional de animais de experimentação<sup>15</sup>, motivando a divulgação deste estudo, que não pode ser completado.

## MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Laboratório de Habilidades Cirúrgicas Avançadas da Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP, Brasil após ser autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade (protocolo 0041/2012). Os cuidados com o preparo dos animais, anestesia, pós-operatório, analgesia e cuidados gerais em biotério foram rigorosamente supervisionados na Instituição e seguiram protocolos específicos<sup>24</sup>. Como a mortalidade dos animais foi significativa, em respeito aos preceitos éticos de experimentação animal, o modelo experimental foi interrompido sem que o estudo de parâmetros bioquímicos como a dosagem de bicarbonato, a avaliação do pH, gases sanguíneos e o estudo histológico do fígado fossem realizados.

Antes dos procedimentos operatórios, os ratos permaneceram em gaiolas individuais com acesso a água e ração padronizada ad libitum, mantidos em temperatura de 25° C, ciclos de luz e escuro de 12 h. Os animais foram pesados, anestesiados com injeção intraperitoneal de cloridrato de quetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), sendo realizada laparotomia mediana e, após os procedimentos propostos para cada um dos três grupos, a operação foi finalizada com sutura da parede abdominal anterior por planos, com fio de náilon 4-0.

Foram utilizados 15 animais (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, pesando em média 210 – 370g, divididos randomicamente em três grupos com cinco animais cada. Os 15 ratos foram operados e observados por 6 h ou até

morrerem, quando foram reoperados. Foram realizados no Grupo 1, controle (sham-operated): dissecação do hilo hepático (Figura 1). No Grupo 2: pinçamento do hilo hepático por 30 m, obtido pela tração do fio de sutura utilizado na dissecação. No Grupo 3: pinçamento do hilo hepático por 15 m, reperfusão do fígado por 5 m e mais 15 m de pinçamento. Os dados dos Grupos 2 e 3 foram comparados com o teste t de Student.

## RESULTADOS

Foi evidenciada congestão dos vasos do território esplâncnico após os 15 m iniciais de oclusão vascular (Grupo 3), inclusive no esôfago abdominal e estômago, confirmando que o pinçamento foi realizado de forma adequada, acima da desembocadura da veia gástrica esquerda na veia porta (Figura 2-a). As tributárias da veia mesentérica superior também apresentaram congestão significativa, confirmando que a repercussão da manobra de Pringle não ocorre apenas no fígado (Figura 2-b).

Quando no Grupo 3 foi realizada a reperfusão hepática por 5 m, foi notado que alguns vasos mesentéricos permaneciam túrgidos (Figura 3-a) e as alças intestinais macroscopicamente apresentavam precocemente sinais de edema e alterações circulatórias (Figura 3-b).

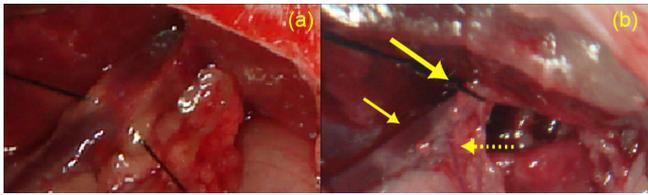
Um animal do Grupo 2 (pinçamento contínuo) e um do Grupo 3 (pinçamento intermitente) sobreviveu as 6 h necessárias para a complementação do estudo. Estes dois animais foram novamente anestesiados e reoperados, mas apresentavam sinais de comprometimento significativo do fígado e das alças intestinais (Figura 4).

Os seis de 16 animais (40%) que morreram antes das 6 h necessárias e os dois que não se recuperaram da primeira anestesia não puderam ser utilizados para a coleta de dados e o experimento foi interrompido. Quando foi constatada a morte destes animais procedeu-se a abertura dos pontos da cavidade abdominal e todos apresentavam extensas áreas de comprometimento do intestino delgado, petéquias na parede das alças intestinais e exsudato sanguinolento na cavidade peritoneal (Figura 5).

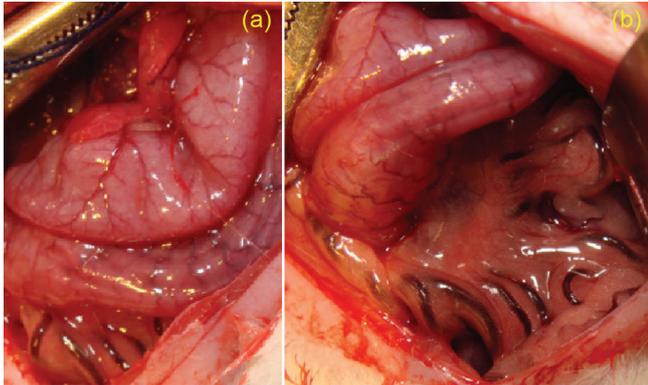
O estudo previa a sobrevivência dos ratos por 6 h, quando parâmetros bioquímicos e histológicos seriam avaliados, mas a mortalidade global de 40% (seis de 15 animais não conseguiram sobreviver as 6 h previstas), ocorrendo a morte de dois animais (13,3%) antes de 6 h no grupo onde foi realizada a compressão contínua da tríade portal por 30 m (Grupo 2) e a morte de quatro animais (26,6%) quando foi realizada a reperfusão hepática por 5 m entre dois períodos de 15 m de compressão do hilo hepático (Grupo 3), inviabilizou o estudo. Os dois animais do Grupo 2 que não se recuperaram da primeira anestesia também não puderam ser utilizados (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

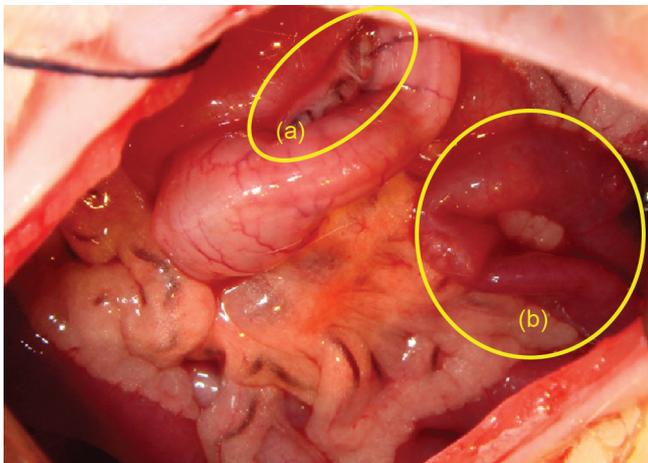
Embora os estudos de Pringle<sup>21</sup> tenham sido publicados há mais de 100 anos (1908), devem ser lidos agora não apenas com enfoque histórico, mas pela atualidade de alguns conceitos relatados. O autor cita que lacerações menores do fígado podem ser tratadas de forma conservadora, mas que nas lesões graves a operação deve ser imediata e o hilo hepático rapidamente comprimido; faz referência direta ao choque, palavra que embora tenha sido descrita pela primeira vez em 1743 e a caracterização de instabilidade fisiológica associada a esta condição seja de 1815<sup>9</sup>, classicamente se considera que estes conceitos foram difundidos apenas posteriormente, em função da Primeira Guerra Mundial (1914-18). O artigo relata a maior gravidade do trauma contuso do que os ferimentos diretos por trauma penetrante, cita estatísticas de mortalidade



**FIGURA 1** - a) Dissecção e reparo com fio de sutura do hilo hepático; b) imagem obtida com auxílio de microscópio cirúrgico, a seta maior demonstra a veia porta, a menor indica a veia mesentérica superior e a seta tracejada evidencia a veia esplênica



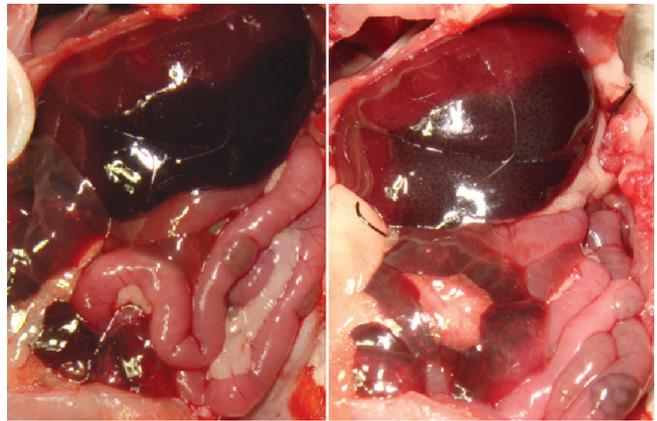
**FIGURA 2** - Aspecto das vísceras após 15 min. de pinçamento do hilo hepático (Grupo 3): a) congestão venosa intensa e precoce no território esplâncnico; b) e nas tributárias da veia mesentérica superior, evidenciando repercussão da manobra de Pringle não apenas na perfusão hepática.



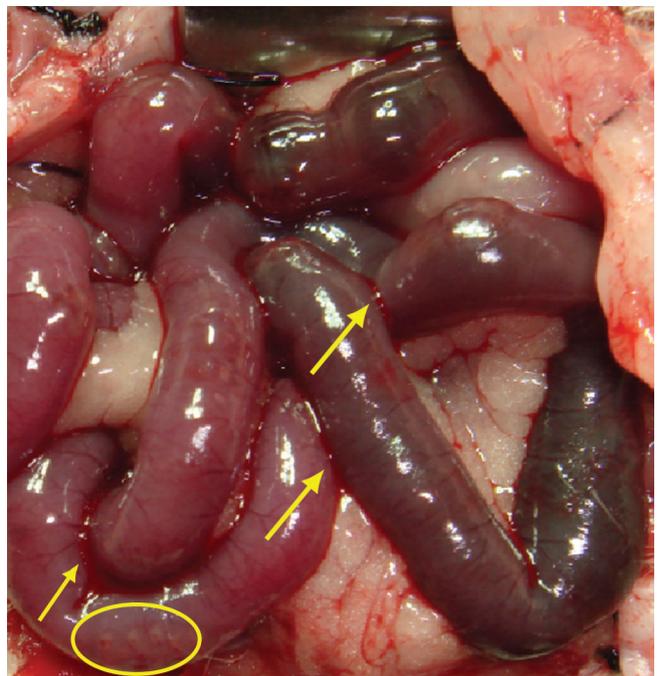
**FIGURA 3** - Aspecto da cavidade abdominal após 5 m de reperfusão, depois dos 15 m iniciais de pinçamento do hilo hepático (Grupo 3); a congestão venosa persistiu (a) mesmo após este período de reperfusão; nota-se edema e sinais macroscópicos sugestivos de alterações circulatórias precoces (b).

**TABELA 1** - Período de isquemia e mortalidade dos animais dos Grupos 2 e 3: apenas um animal de cada grupo sobreviveu 6 h em condições satisfatórias e não houve significância estatística quando os valores dos dois grupos foram comparados ( $p > 0,05$ ).

Período de isquemia/ mortalidade	Morte antes de 6 horas	Sobreviveu 6 h e não se recuperou da anestesia	Sobreviveu 6 horas	Significância estatística
Número de animais (grupos de 5)				
30 minutos contínuos	2	2	1	NS ( $p > 0,05$ )
15 minutos de isquemia, 5 minutos de reperfusão, mais 15 minutos de isquemia	4	0	1	NS ( $p > 0,05$ )



**FIGURA 4** - Aspecto do fígado e das alças intestinais dos animais que sobreviveram até o final do experimento (6 h); tanto a isquemia contínua quanto a intermitente se acompanhou de repercussões tardias significativas.



**FIGURA 5** - Aspecto das alças intestinais com edema e sinais de sofrimento vascular de animal que não sobreviveu até o final do estudo proposto; notam-se petéquias na parede da alça intestinal (destaque) e exsudato sanguinolento na cavidade peritoneal (setas)

e epidemiologia destes traumas, relata as necropsias realizadas, discorre sobre ferimento torácico e abdominal, múltiplos traumas, cita pressão intra-abdominal, táticas para rafia hepática e apresenta material para síntese do tecido hepático especialmente desenvolvido para o autor. As repercussões da compressão do pedículo hepático sobre a circulação intestinal também foram citadas neste artigo pioneiro, que descreveu o tratamento de oito doentes em Glasgow, assim como o estudo experimental de Pringle em coelhos, relatando o escurecimento do intestino de um dos quatro animais onde realizou cortes no parênquima e a ressecção de um lobo hepático. O objetivo do experimento foi avaliar a diminuição do sangramento que ocorre com a compressão da tríade portal e embora o pedículo hepático do primeiro coelho operado tenha sido clampeado por 1 h, o animal sobreviveu, assim como três outros. Os oito doentes faleceram, e são citados autores da época, Ponfick e Langenbuch, que relataram a “perigosa congestão do intestino” que acompanha a obstrução da circulação portal e também o tromboembolismo pulmonar originado nos vasos hepáticos, definido como “comum e fatal”. Pringle também descreveu táticas bastante atuais, como a secção dos ligamentos do fígado para melhorar a exposição do órgão durante a operação, a secção das costelas inferiores e do diafragma quando ainda não havia intubação traqueal, assim como o tamponamento do ferimento e laparotomia abreviada. Considerando a época em que foi escrito, nota-se que muitos conceitos considerados “atuais”, já foram utilizados pelo autor e mesmo com os recursos agora disponíveis, dificilmente alguns doentes operados por ele seriam salvos.

Tralhão et al.<sup>28</sup>, em Coimbra, utilizaram duas opções táticas para auxiliar a realização de ressecções hepáticas eletivas em 61 doentes. A manobra de Pringle intermitente foi realizada em 33 doentes e o clampeamento seletivo dos ramos direito ou esquerdo da veia porta e da artéria hepática foi utilizado em 11 doentes. Os 17 restantes não necessitaram manobras específicas para a realização das ressecções hepáticas. Os autores não encontraram diferenças com significância estatística com relação à morbidade, repercussões nos parâmetros clínicos de monitorização e na análise de parâmetros bioquímicos, ocorrendo apenas alterações dos valores de algumas enzimas hepáticas.

Hirano et al.<sup>10</sup>, estudando choque hipovolêmico em ratos, realizaram a manobra de Pringle por 15 m e encontraram congestão venosa com dilatação das veias e cianose do intestino delgado e do baço logo nos primeiros minutos após a compressão da tríade portal. No estudo aqui apresentado encontrou-se congestão, mas não cianose, e após os 15 m iniciais, quando no Grupo 3 foi realizada a reperfusão hepática por 5 m, notou-se que alguns vasos mesentéricos permaneciam túrgidos e as alças intestinais apresentavam precocemente sinais de edema e alterações circulatórias, como pode ser visto na Figura 3. Os mesmos autores, estudando apenas o período agudo do experimento, relataram mortalidade global de 9,3% (três animais em 32), sendo um (12,5%) no grupo em que realizaram a manobra de Pringle e dois (25%) quando a mesma manobra foi realizada em animais em choque hipovolêmico; o experimento evidenciou, além de congestão venosa esplâncnica, petéquias nas alças intestinais e exsudato sanguinolento na cavidade abdominal. O estudo que aqui realizou-se previa a sobrevivência dos ratos por 6 h, quando parâmetros bioquímicos e histológicos seriam avaliados, mas a mortalidade global de 40% (seis de 15 animais não conseguiram sobreviver o tempo previsto), ocorrendo a morte de dois animais (13,3%) antes de 6 h no grupo onde foi realizada a compressão contínua da tríade portal por 30 m e a morte de quatro animais (26,6%) quando foi realizada a reperfusão hepática por 5 m entre dois períodos de 15 m de compressão do hilo hepático, acarretou na suspensão do experimento. Também evidenciaram-se petéquias em alça do intestino delgado e exsudato sanguinolento na

cavidade (Figura 5). A reperfusão do parênquima hepático após períodos de isquemia e a grande congestão venosa no território esplâncnico durante o pinçamento da tríade portal acarretam repercussões sistêmicas significativas, que no estudo apresentado inviabilizaram a sobrevivência dos animais.

Embora se considere que a manobra de Pringle por mais de 30 m em ratos se acompanhe de alta mortalidade<sup>10</sup>, Unalp et al.<sup>29</sup> a utilizaram por 30 e 60 m nestes animais, mas o experimento terminava após este período, sem que houvesse necessidade de sobrevivência. Rocha et al.<sup>22</sup>, ocluíram a aorta abdominal de ratos para avaliar isquemia mesentérica por até 90 m, mas o experimento também previa a retirada dos órgãos após períodos curtos de reperfusão. Neste estudo quatro animais do grupo em que houve a isquemia intermitente e dois do grupo em que a isquemia foi contínua morreram antes de 6 h e embora dois animais tenham sobrevivido até o final do experimento, não se recuperaram da primeira anestesia e possivelmente não sobreviveriam por muito tempo. Esperava-se mortalidade maior dos animais que permaneceram por 30 m com a tríade portal pinçada, mas quatro animais do grupo onde foi realizada a isquemia intermitente morreram precocemente. Embora não tenha sido evidenciada significância estatística entre a mortalidade dos Grupos 2 e 3, possivelmente as repercussões dos fenômenos da isquemia e reperfusão contribuíram para estes resultados.

No final da década de 1980, com o desenvolvimento da solução para preservação hipotérmica de órgãos na Universidade de Wisconsin, houve grande desenvolvimento dos transplantes hepáticos. A solução hipotérmica reduz o metabolismo, a concentração de enzimas catabólicas, o edema celular e a acidose, minorando a lesão do enxerto que será transplantado e sua consequente disfunção, acompanhada de grande morbidade e mortalidade<sup>8,18</sup>. A diminuição da oxigenação dos hepatócitos durante a isquemia resulta em depleção de ATP, acúmulo de íons hidrogênio, alterações eletrolíticas do sódio e cálcio, com ativação de enzimas e edema de células hepáticas, disfunção da microcirculação, acúmulo e ativação de neutrófilos, liberação de radicais livres, citocinas inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1 (IL-1) e proteases. Os linfócitos T ativados nesta situação potencializam a resposta celular<sup>3</sup>. O restabelecimento do fluxo sanguíneo resulta em fenômenos pouco compreendidos, envolvendo mecanismos e vias metabólicas celulares complexas, que agravam a lesão isquêmica. Ocorre disfunção endotelial, ativação das células de Kupffer, sequestro de leucócitos, agregação de plaquetas, distúrbios da microcirculação, liberação de radicais livres, óxido nítrico e outros mediadores pró-inflamatórios, agravando a lesão<sup>18</sup>. Os radicais livres são importantes para o desenvolvimento de fenômenos inflamatórios, principalmente porque reagem com os fosfolípides da membrana celular, desencadeando desintegração desta membrana com danos celulares irreversíveis, gerando fatores quimiotáticos e acúmulo de leucócitos polimorfonucleares nos tecidos lesados<sup>12,23</sup>. Os fenômenos descritos nesta situação são complexos, envolvem mecanismos ainda pouco compreendidos e representam amplo campo de pesquisa com muitos dados a serem estudados.

A apresentação de resultados adversos na prática clínica e as dificuldades relacionadas à abordagem do tema sempre provocaram discussões; muitos artigos importantes discutem os aspectos éticos da pesquisa e as falhas, inclusive intencionais, na condução de estudos em vários países<sup>2,6,7,20,25</sup>. Em 1994, Altman<sup>1</sup> publicou editorial na conceituada Revista British Medical Journal, com aproximadamente uma página, afirmando que precisa-se de menos pesquisas médicas, porém de estudos com maior qualidade; relatou a ocorrência frequente de falhas de metodologia (intencionais ou por ignorância), do emprego de métodos de análise incorretos, particularmente da escolha do método estatístico, que

quando adequado, seria uma forma de minimizar as falhas de interpretação dos resultados. A repercussão do texto denominado, em tradução livre, “o escândalo da pesquisa médica pobre” foi rápida, na forma de dez Cartas ao Editor, publicadas no mesmo volume da revista, que ocuparam pelo menos o triplo do espaço impresso do primeiro editorial<sup>4,7,11,13,16,17,19,26,27,30</sup>. Uma das cartas publicadas neste mesmo volume citou um estudo Inglês sobre câncer da mama, publicado em 1990 na Revista *The Lancet*, que foi amplamente divulgado inclusive pela imprensa leiga, mas posteriormente evidenciou-se que a coleta de dados de acompanhamento do estudo foi falha e a análise estatística incorreta, sendo definida, também em tradução livre, como: “não só a pesquisa foi ruim, ‘não-ética em si mesmo’, mas neste caso surgiram mais problemas éticos por causa dos danos causados às mulheres que participaram da pesquisa”. Após a repercussão negativa um dos autores do estudo cometeu suicídio<sup>6</sup>, mas o editor da Revista *The Lancet* na época não aceitou publicar uma retratação formal, afirmando que esta atitude deve ser reservada a casos de fraude e não quando ocorreu erro, sendo criticado por sua atitude, uma vez que o artigo, com conclusões inadequadas, teve ampla repercussão e continuou a ser citado no mundo todo<sup>7</sup>.

Em muitas situações, o uso de animais de experimentação é fundamental, mas deve haver revisão crítica dos modelos experimentais periodicamente, impedindo mortes desnecessárias<sup>3,20</sup> devendo ser respeitado, portanto, o princípio humanitário da experimentação animal conhecido como os três R: Reduction, Replacement e Refinement (Redução, Reposição e Refinamento).

## CONCLUSÕES

A proposta inicial deste estudo, análise dos parâmetros bioquímicos e histológicos do fígado, não pode ser seguida em função da mortalidade dos animais, evidenciando que as repercussões da manobra de Pringle são significativas também sobre o território esplâncnico, mesmo com a isquemia intermitente da tríade portal. O respeito aos preceitos éticos da experimentação com animais fez com que o estudo fosse interrompido e os resultados adversos apresentados, para evitar que este método, que implica na sobrevivência dos animais por período maior após a reperfusão completa, seja repetido em outras pesquisas.

## REFERÊNCIAS

- Altman DG. The scandal of poor medical research. *BMJ* 1994;308:283-4
- Ankier SI. Dishonesty, misconduct and fraud in clinical research: an international problem. *J Intern Med* 2002;30:357-65.
- Braz MM, Mir ME, Castro MBJ, Ramirez AC, Ramalho FS, Peralta C. The current state of knowledge of hepatic ischemia-reperfusion injury based on its study in experimental models. *J Biomed Biotech* 2012;2012:1-20.
- Dudley H. The scandal of poor medical research. Statisticians can be inconsistent and uncommunicative. *BMJ* 1994;308:592.
- Evora PRB, Castro e Silva O. Choque circulatório, SIRS e disfunção endotelial. In: Petroianu A, editor. *Clínica Cirúrgica do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. São Paulo: Atheneu; p. 109-19.
- Fallowfield L. Cancer study controversy. *BMJ* 1994;308:593.
- Goodare H. The scandal of poor medical research. Wrong results should be withdrawn. *BMJ* 1994;308:593.
- Hart NA, van der Plaatsb A, Leuveninka HGD, Wiersema-Buista J, Olingac P, van Luynd MJA, et al. Initial blood washout during organ procurement determines liver injury and function after preservation and reperfusion. *Am J Transplant* 2004;4:1836-44.
- Hirano ES, Mantovani M, Morandin RC, Fontelles MJP. Modelo experimental de choque hemorrágico. *Acta Cir Bras* 2003;18(5):465-70.
- Hirano ES, Mantovani M, Morandin RC. Isquemia e reperfusão hepática total em condições de normalidade e sob estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no seqüestro de neutrófilos no rim do rato. *Acta Cir Bras* 2005;20(4):292-9.
- Ind TEJ. The scandal of poor medical research. Doctors lose their battle with statistics. *BMJ* 1994;308:592.
- Jaeschke H, Smith CV, Mitchell JR. Reactive oxygen species during ischemia-reflow injury in isolated perfused rat liver. *J Clin Invest* 1988;81:1240-6.
- Jones R, Scouller J, Grainger F, Lachian M, Evans S, Torrance N. The scandal of poor medical research. Sloppy use of literature often to blame. *BMJ* 1994;308:591.
- Kim SK, Lim HK, Ryu J, Choi D, Lee WJ, Lee JY, et al. Radiofrequency ablation of rabbit liver in vivo: effect of the Pringle maneuver on pathologic changes in liver surrounding the ablation zone. *Korean J Radiol* 2004;5:240-9.
- Kinshoku MR, Rodriguez CAL, Fidalgo RS, Duran CCG, Leme PLS, Duarte IS. Uso racional de modelos animais para pesquisa e ensino de microcirurgia. *Rev Col Bras Cir* 2012;39(5):414-417.
- Masterson GR, Ashcroft GS. The scandal of poor medical research. Better libraries and more journal clubs would help. *BMJ* 1994;308:592-3.
- Matheson NA. The scandal of poor medical research ... while poor leadership fuels mediocrity. *BMJ* 1994;308:591.
- Miranda LEC, Viaro F, Ceneviva R, Evora PRB. As bases experimentais da lesão por isquemia e reperfusão do fígado: revisão. *Acta Cir Bras* 2004;19(1):3-12.
- Morris JA. The scandal of poor medical research. Theory must drive experiment. *BMJ* 1994;308:592.
- Petroianu A. *Clínica Cirúrgica do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. São Paulo: Atheneu; 2010. Capítulo 56, Pesquisa em cirurgia; p. 847-59.
- Pringle JH. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann Surg* 1908;48:541-9.
- Rocha BC, Mendes RRS, Lima GV, Albuquerque GS, Araújo LL, Jesus MNS et al. Experimental model of mesenteric ischemia/reperfusion by abdominal aorta clamping in Wistar rats. *Rev Col Bras Cir* 2012;39(3):207-10.
- Schoenberg MH, Buchler M, Gaspar M, Stinner A, Younes M, Melzner I, et al. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut* 1990;31:1138-43.
- Silva AR, Kriguer-Júnior RJ, Serigiolle LC, Gomes HMP, Rodrigues DAB, Leme PLS. Aumento do volume do baço em modelo experimental de hipertensão portal pré-hepática em ratos. *Arq Bras Cir Dig* 2013;26(3):206-212.
- Sutcliffe KM, Lewton E, Rosenthal MM. Communication failures: an insidious contributor to medical mishaps. *Acad Med* 2004;79:186-94.
- Sykes A. The scandal of poor medical research. Undergraduates learn the wrong lessons. *BMJ* 1994;308:592.
- Tallis RC. The scandal of poor medical research. Researchers forced to do boring research... *BMJ* 1994;308:591.
- Tralhão JG, Hoti E, Oliveiros B, Abrantes AM, Botelho MF, Castro-Sousa F. Intermittent Pringle maneuver and hepatic function: perioperative monitoring by noninvasive ICG-clearance. *World J Surg* 2009;33(12):267-34.
- Unalp OV, Aydin U, Yazici P, Nart D, Yenisey C, Kavak T et al. The effects of the Pringle maneuver on the pancreas: can octreotide be protective? *J Pancreas* 2008;10(3):284-91.
- Walsworth-Bell JP. The scandal of poor medical research. Be positive about research. *BMJ* 1994;308:593.