

## Tramadol Atenua Lesões Miocárdicas Induzidas pela Reperfusão Pós-Isquêmica Aguda de Membros Posteriores em Ratos

*Tramadol Alleviates Myocardial Injury Induced by Acute Hindlimb Ischemia Reperfusion in Rats*

Hamed Ashrafzadeh Takhtfooladi<sup>1</sup>, Adel Haghghi Khiabani Asl<sup>1</sup>, Mehran Shahzamani<sup>2</sup>, Mohammad Ashrafzadeh Takhtfooladi<sup>3</sup>, Amin Allahverdi<sup>4</sup>, Mohammadreza Khansari<sup>5</sup>

Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University<sup>1</sup>, Department of Cardiovascular Surgery, Isfahan University of Medical Sciences<sup>2</sup>, Young Researchers and Elites Club, Science and Research Branch, Islamic Azad University<sup>3</sup>, Department of Surgery, Science and Research Branch, Islamic Azad University<sup>4</sup>, Department of Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University<sup>5</sup>, Tehran - Irã

### Resumo

**Fundamento:** Lesões a órgãos ocorrem não apenas durante períodos de isquemia, mas paradoxalmente, também durante a reperfusão. Sabe-se que a reperfusão pós-isquêmica (RPI) causa lesões tanto remotas quanto locais no órgão afetado.

**Objetivo:** Este estudo avaliou os efeitos do tramadol no coração como órgão remoto, após RPI aguda dos membros posteriores.

**Métodos:** Trinta ratos Wistar, machos, adultos e saudáveis, foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: Grupo I (controle), Grupo II (RPI) e Grupo III (RPI + tramadol). Isquemia foi induzida em ratos anestesiados através do pinçamento da artéria femoral esquerda por 3 horas, seguidas de 3 horas de reperfusão. Tramadol foi administrado (20 mg/kg, IV) imediatamente antes da reperfusão. Ao final da reperfusão, os animais foram sacrificados e seus corações coletados para exames histológicos e bioquímicos.

**Resultados:** Os níveis de superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona-peroxidase (GPx) foram maiores nos grupos I e III que no grupo II ( $p < 0,05$ ). Em comparação aos outros grupos, os níveis tissulares de malondialdeído (MDA) estavam significativamente mais elevados no grupo II ( $p < 0,05$ ), o que foi evitado pelo uso de tramadol. Foram pontuadas as alterações histopatológicas, incluindo micro-hemorragia, edema, infiltração por neutrófilos e necrose. A pontuação total das lesões do grupo III foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) em comparação ao grupo II.

**Conclusão:** Do ponto de vista histológico e bioquímico, o tratamento com tramadol diminuiu as lesões miocárdicas induzidas pela RPI da musculatura esquelética neste modelo experimental. (Arq Bras Cardiol. 2015; 105(2):151-159)

**Palavras-chave:** Tramadol/uso terapêutico; Traumatismos Cardíacos; Coração/fisiopatologia; Traumatismo por Reperfusão; Ratos.

### Abstract

**Background:** Organ injury occurs not only during periods of ischemia but also during reperfusion. It is known that ischemia reperfusion (IR) causes both remote organ and local injuries.

**Objective:** This study evaluated the effects of tramadol on the heart as a remote organ after acute hindlimb IR.

**Methods:** Thirty healthy mature male Wistar rats were allocated randomly into three groups: Group I (sham), Group II (IR), and Group III (IR + tramadol). Ischemia was induced in anesthetized rats by left femoral artery clamping for 3 h, followed by 3 h of reperfusion. Tramadol (20 mg/kg, intravenous) was administered immediately prior to reperfusion. At the end of the reperfusion, animals were euthanized, and hearts were harvested for histological and biochemical examination.

**Results:** The levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) were higher in Groups I and III than those in Group II ( $p < 0.05$ ). In comparison with other groups, tissue malondialdehyde (MDA) levels in Group II were significantly increased ( $p < 0.05$ ), and this increase was prevented by tramadol. Histopathological changes, including microscopic bleeding, edema, neutrophil infiltration, and necrosis, were scored. The total injury score in Group III was significantly decreased ( $p < 0.05$ ) compared with Group II.

**Conclusion:** From the histological and biochemical perspectives, treatment with tramadol alleviated the myocardial injuries induced by skeletal muscle IR in this experimental model. (Arq Bras Cardiol. 2015; 105(2):151-159)

**Keywords:** Tramadol/ therapeutic use; Heart Injuries; Heart/physiopathology; Reperfusion Injury; Rats.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

**Correspondência:** Mohammad Ashrafzadeh Takhtfooladi •

Young Researchers and Elites Club, Science and Research Branch, Islamic Azad University. CEP 8177613343, Tehran, Irã.

E-mail: dr\_ashrafzadeh@yahoo.com

Artigo recebido em 02/01/15; revisado em 27/02/15; aceito em 11/03/15.

DOI: 10.5935/abc.20150059

## Introdução

O restabelecimento do fluxo sanguíneo depois de um período de isquemia causa lesões por reperfusão pós-isquêmica (RPI). As lesões por RPI são um problema clínico sério, que ocorre em muitas patologias e cirurgias, tais como cirurgias ortopédicas em membros, transplantes de órgãos, circulação extracorpórea e choque hipovolêmico<sup>1,2</sup>. Durante a RPI, os tecidos são submetidos a citocinas pró-inflamatórias destrutivas e a espécies reativas de oxigênio, liberadas pelas células inflamatórias, que levam a lesões inflamatórias e apoptose celular<sup>3,4</sup>. A RPI também afeta os órgãos secundários, incluindo o fígado<sup>5</sup>, o coração<sup>6</sup>, os rins<sup>7</sup>, os pulmões<sup>8</sup> e chega mesmo a causar falência múltipla de órgãos, uma causa comum de mortalidade. Portanto, é urgentemente necessária a busca de agentes antioxidantes, anti-inflamatórios e antiapoptóticos para atenuar as lesões a múltiplos órgãos que a RPI induz.

Diversos pesquisadores demonstraram que a via metabólica opioide está envolvida na preservação dos tecidos durante a hipóxia ou isquemia e que essa proteção é mediada pelo receptor opioide delta<sup>9,10</sup>. Provou-se que a morfina tem efeitos cardioprotetores durante a RPI<sup>11,12</sup>. Fatores tais como depressão respiratória e liberação de histamina são as desvantagens do uso da morfina no período pós-operatório da cirurgia cardíaca de peito aberto<sup>13</sup>.

O tramadol é um fármaco interessante, pois tem um mecanismo de ação incomum que envolve os sistemas de analgesia opioide, da noradrenalina e da serotonina (5-hidroxitriptamina). Ele certamente é útil no tratamento de dores crônicas e agudas. Embora o tramadol não cause depressão respiratória, os problemas de náusea quando usado em doses analgésicas clinicamente eficazes contra dores severas, além do risco de consciência durante a operação, podem representar desvantagens significativas desse fármaco<sup>14</sup>. Pesquisas recentes revelam que o tramadol diminui a peroxidação de lipídios e regula a reabsorção de noradrenalina; portanto, essas propriedades terapêuticas são usadas no manejo da isquemia do miocárdio<sup>15</sup>.

Nos últimos anos, o tramadol demonstrou proteger órgãos locais e remotos contra lesões por RPI<sup>15-18</sup>. Entretanto, o papel do tramadol na redução de lesões do miocárdio após RPI de membros posteriores ainda não foi abordado. Neste estudo, foi examinado o efeito do tramadol em lesões do miocárdio após RPI, através da avaliação de alterações bioquímicas e histológicas em ratos.

## Métodos

Trinta ratos Wistar machos, saudáveis e adultos, pesando entre 250–300 g, foram comprados do Instituto Pasteur do Irã. Todos os procedimentos e protocolos utilizados nesta pesquisa foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Islâmica Azad. Os animais foram mantidos sob uma temperatura ambiente constante de 20–22 °C, umidade relativa de 50–60%, ciclos claro-escuro de 12 h/12 h e acesso a água de torneira filtrada e ração comercial *ad libitum*. Os ratos foram colocados em gaiolas plásticas individuais com assoalho macio.

## Grupos experimentais

Os ratos foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais de dez ratos cada um (entre os 10 de cada grupo, cinco foram usados para provas bioquímicas e cinco para análise histológica). O Grupo I (de controle) foi submetido a todos os procedimentos, exceto a oclusão arterial. Os animais receberam 2 mL de soro fisiológico a 0,9% pela veia jugular. O Grupo II foi submetido à RPI. 2 mL de soro fisiológico a 0,9% foram administrados imediatamente antes do período de reperfusão. O Grupo III (IR + tramadol) também foi submetido à RPI e recebeu uma solução de 20 mg/kg de tramadol<sup>16</sup> em soro fisiológico a 0,9%, com um volume total de 2 mL.

## Anestesia

Os ratos foram pesados e anestesiados através de uma injeção intramuscular de cloridrato de cetamina a 10% e cloridrato de xilazina a 2% (respectivamente, 50 mg/kg e 10 mg/kg).

## Cirurgia

Depois da indução da anestesia, os animais foram colocados numa plataforma, em decúbito dorsal, com seus membros torácicos e pélvicos imobilizados com fita adesiva. A veia jugular foi isolada e cateterizada para a administração de heparina, tramadol e soro fisiológico comum. O membro posterior esquerdo foi preparado para cirurgia estéril. Foi feita uma incisão cutânea na superfície medial do membro posterior esquerdo e a artéria femoral foi isolada e pinçada com uma pinça não traumática durante 3 h, seguidas de 3 h de reperfusão. Antes da oclusão da artéria femoral, 250 UI de heparina<sup>17</sup> foram administradas pela veia jugular, para evitar a coagulação. Os ratos foram mantidos em decúbito dorsal e anestesiados (doses adicionais foram administradas quando necessário) por toda a duração do período de isquemia. A temperatura corporal foi mantida com uma almofada térmica e monitorada com um termômetro retal. O fórceps vascular foi removido e o local da cirurgia fechado de forma rotineira com suturas 3-0 de polipropileno depois do período de isquemia. Os indivíduos do Grupo I foram submetidos a um procedimento cirúrgico semelhante ao dos outros grupos, mas a artéria femoral não foi ocluída.

## Coleta de amostras

Ao final do procedimento, os ratos foram sacrificados com a injeção de uma overdose de pentobarbital (300 mg/kg, i.p.), e os corações foram rapidamente extraídos.

## Análise histológica

Para a análise histológica, os corações foram fixados com formol a 10%, depois incluídos em parafina, cortados em seções de 5 µm de espessura e corados com hematoxilina e eosina. As seções foram examinadas de forma semiquantitativa, usando ampliações de 250× e 400× num microscópio óptico por um patologista sem conhecimento do experimento e dos dados. Os parâmetros histológicos, tais como micro-hemorragia, edema, infiltração por neutrófilos e necrose, foram pontuados de acordo com a classificação de Papoutsidakis e cols.<sup>19</sup>, como mostra a Tabela 1. Foram examinados aproximadamente dez campos de

Tabela 1 – Graduação histológica (Papoutsidakis e cols.)

	0	1	2	3	Ampliação
Necrose	Nenhuma ou 1–3 células mortas em menos de 3 campos de visualização	≤ 3 células mortas por campo em pelo menos 3 campos, ou 4–6 células mortas em não mais que 3 campos	4–6 células mortas por campo em pelo menos 4 campos, ou > 6 células mortas em não mais que 3 campos	> 6 células mortas em pelo menos 4 campos	400×
Leucócitos polimorfonucleares	Nenhum, ou 1–3 células em < 3 campos	≤ 3 células por campo em pelo menos 3 campos, ou 4–6 células em não mais que 3 campos	4–6 células por campo em pelo menos 4 campos, ou > 6 células em não mais que 3 campos	> 6 células em pelo menos 4 campos	400×
Eosinófilos	Nenhum, ou 1–3 células em < 3 campos	≤ 3 células por campo em pelo menos 3 campos, ou 4–6 células em não mais que 3 campos	4–6 células por campo em pelo menos 4 campos, ou > 6 células em não mais que 3 campos	> 6 células em pelo menos 4 campos	400×
Perda de estriação	Nenhuma, ou 1–5 células em < 3 campos	≤ 5 células por campo em pelo menos 3 campos, ou 5–10 células em não mais que 3 campos	5–10 células por campo em pelo menos 4 campos, ou > 6 células em não mais que 3 campos	> 10 células em pelo menos 4 campos	400×
Edema	Nenhum	< 10 % dos campos em pelo menos 3 campos, ou > 10 % em < 3 campos	10–30% dos campos em pelo menos 3 campos, ou > 30% em < 3 campos	> 30% dos campos em pelo menos 3 campos	250×
Micro-hemorragia	Nenhuma	Presente em < 10% dos campos em pelo menos 3 campos, ou > 10% em < 3 campos	Presente em 10–30% dos campos em pelo menos 3 campos, ou > 30% em < 3 campos	Presente em > 30% dos campos em pelo menos 3 campos	250×

visualização em cada ampliação. A pontuação histológica total de cada amostra foi determinada pela soma de todas as pontuações parciais.

### Exame bioquímico

As evidências de estresse oxidativo foram determinadas a partir de homogeneizados de tecido cardíaco através das atividades da glutatona-peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido-dismutase (SOD), e dos níveis de malondialdeído (MDA). Cada coração foi mantido num recipiente separado a -80°C até o momento da análise. Os tecidos foram homogeneizados numa solução tampão de fosfato 0,1 M (pH 7.4) com um homogeneizador Ultra Turrax. Os homogeneizados foram centrifugados a 5000 rpm e a +4°C por 10 min, e os sobrenadantes foram removidos e examinados quanto ao MDA e às atividades de GPx e SOD. As atividades tissulares de GPx e SOD foram medidas com um autoanalisador Hitachi 917, usando kits comerciais. As atividades de SOD e GPx foram expressas em U/mg de proteína nas amostras de tecido. Os níveis tissulares de MDA foram determinados pelo método do ácido tiobarbitúrico de Okhawa e cols.<sup>20</sup> Os níveis de MDA foram expressos como nmol/mg de proteína nas amostras de tecido. As atividades de CAT foram determinadas pela medição da diminuição da concentração de peróxido de hidrogênio a 230 nm, pelo método de Beutler<sup>21</sup>. A atividade de CAT foi expressa em U/mg de proteína nas amostras de tecido.

### Análise estatística

Os dados foram analisados com o pacote de software estatístico SPSS (versão 18). A distribuição dos grupos foi analisada com um teste de Kolmogorov–Smirnov para uma amostra. Os resultados foram submetidos a uma análise de variância para a comparação de múltiplas médias (ANOVA), com análise *post-hoc* do teste. Os dados bioquímicos foram submetidos ao teste não paramétrico de diferença Kruskal–Wallis. Os dados são apresentados como média ± desvio-padrão e o nível de significância foi de 5%.

### Resultados

O procedimento experimental foi bem tolerado e nenhum animal foi morto durante o experimento.

#### Resultados bioquímicos

Os níveis de SOD, CAT, GPx e MDA foram medidos nos tecidos cardíacos depois de 3 h de reperfusão. Os níveis de SOD, CAT e GPx foram significativamente menores no Grupo II que nos outros grupos (Figuras 1–3). Por outro lado, a lesão por RPI atenuou os níveis dessas moléculas e essa atenuação foi revertida pela injeção intravenosa de tramadol. Em comparação com os outros grupos, os níveis tissulares de MDA no Grupo II foram significativamente aumentados (Figura 4), o que foi evitado pelo tramadol.

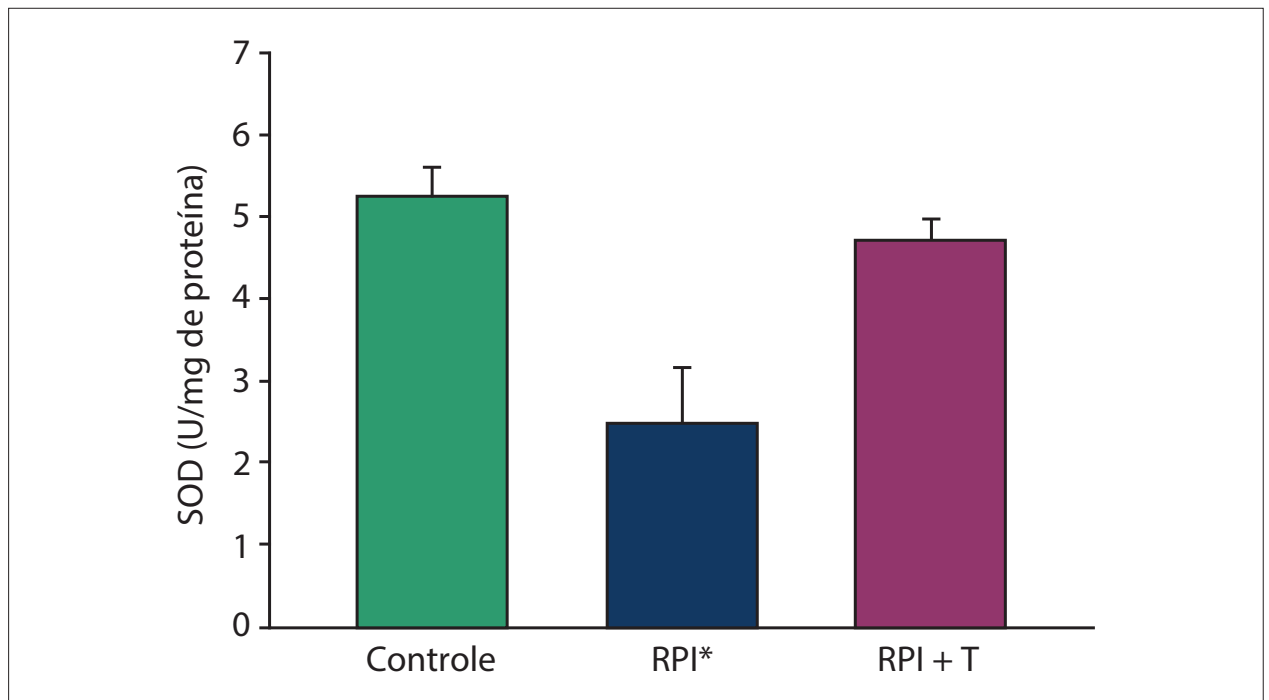


Figura 1 – SOD: Superóxido-dismutase (U/mg de proteína) no tecido cardíaco entre os grupos estudados. \*RPI: Reperusão pós-islquêmica; RPI+T: Reperusão pós-islquêmica + tramadol. Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. \*  $p < 0,00$ .

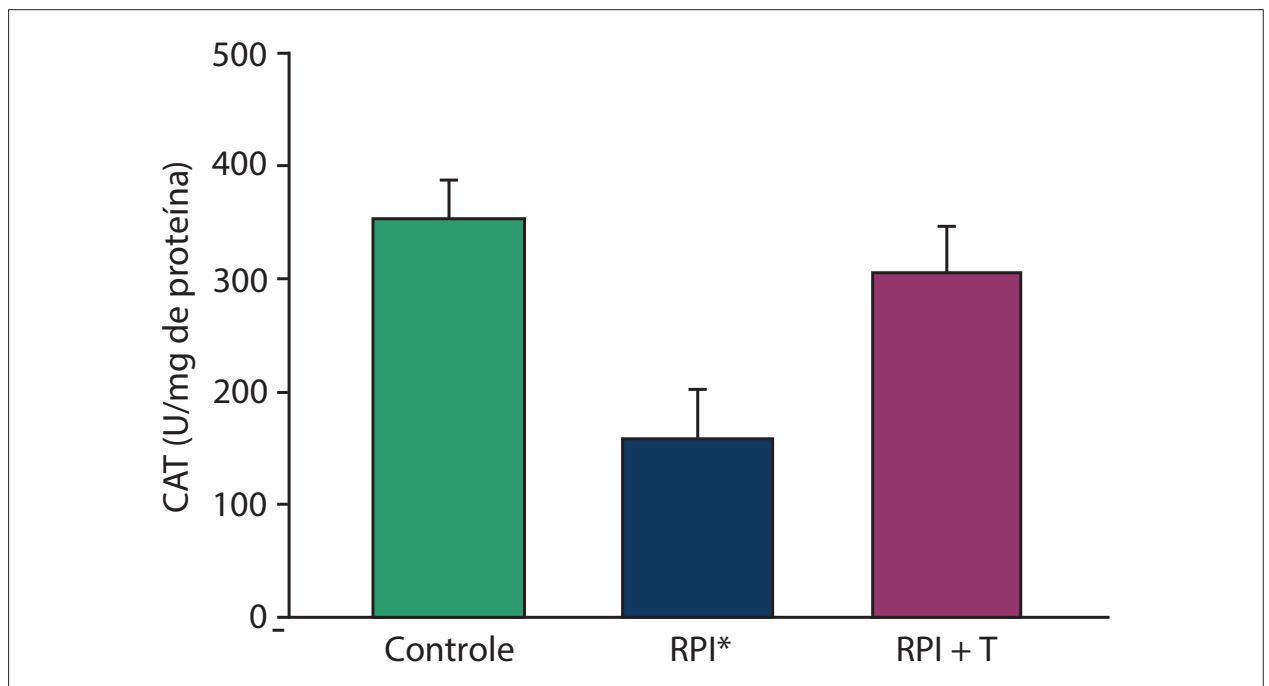


Figura 2 – CAT: Catalase (U/mg de proteína) no tecido cardíaco entre os grupos estudados. \*RPI: Reperusão pós-islquêmica; RPI+T: Reperusão pós-islquêmica + tramadol. Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. \*  $p < 0,00$ .

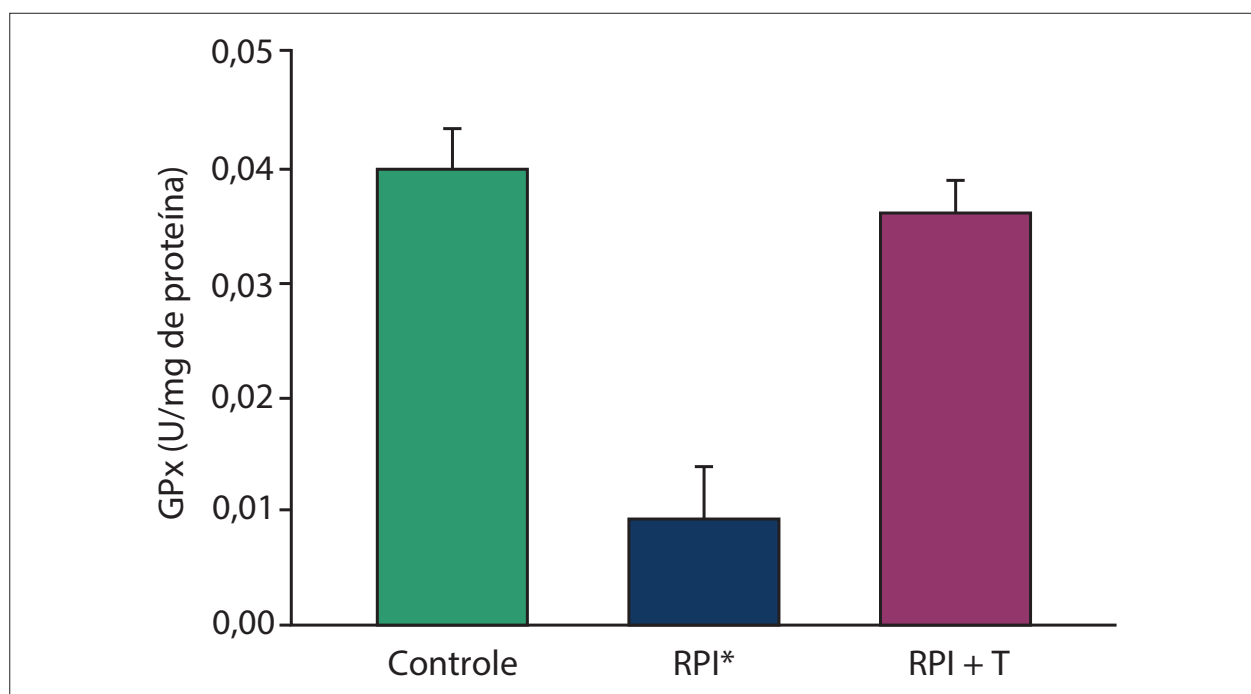


Figura 3 – GPx: Glutaciona-peroxidase (U/mg de proteína) no tecido cardíaco entre os grupos estudados. \*RPI: Reperusão pós-isquêmica; RPI+T: Reperusão pós-isquêmica + tramadol. Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. \*  $p < 0,00$ .

### Resultados histológicos

As alterações histopatológicas, incluindo micro-hemorragia, edema, infiltração por neutrófilos e necrose coagulativa, foram pontuadas. A pontuação total das lesões no Grupo III foi significativamente menor que a do Grupo II (Figura 5). Imagens microscópicas representativas do miocárdio nos Grupos II e III, coradas por hematoxilina e eosina, são apresentadas nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

### Discussão

As consequências locais e remotas de lesões aos membros por RPI continuam sendo um problema clínico sério para cirurgiões gerais vasculares, radiologistas intervencionistas e cardiologistas. A reperusão do músculo esquelético provoca ativação e adesão de neutrófilos polimorfonucleares, com a liberação de substâncias pró-inflamatórias e a formação de radicais livres, que são espécies reativas derivadas do nitrogênio ou do oxigênio, tais como superóxido, peróxido e radicais hidroxila<sup>22-24</sup>. Além disto, os fatores de lesão pró-inflamatórios e tissulares, ativados em grandes quantidades após lesões dos músculos esqueléticos por RPI, circulam tanto através do sistema venoso quanto do linfático e induzem lesões em órgãos distantes<sup>25</sup>. Essa lesão de órgãos distantes às vezes pode ser um componente de uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica, de desconforto respiratório agudo ou de disfunção de múltiplos órgãos, que inicialmente são desencadeadas por mediadores inflamatórios derivados dos músculos<sup>26</sup>.

Até onde sabemos, há apenas alguns relatos que demonstram lesões remotas do miocárdio em seguida a lesões de músculos

esqueléticos por RPI.<sup>8</sup> Os resultados de Takhtfooladi e cols.<sup>27</sup> indicam que a RPI de membros posteriores induz danos severos ao miocárdio e que a N-acetilcisteína possui efeitos protetores contra lesões do miocárdio após RPI de membros posteriores. Seus dados apoiam esta visão de que a oclusão temporária da artéria femoral induz lesões do miocárdio em ratos<sup>27</sup>.

Estudos anteriores demonstraram que o uso do tramadol depois da RPI em animais atenuou as lesões oxidativas. Nagakannane e cols.<sup>28</sup> demonstraram o efeito neuroprotetor do tramadol contra a isquemia temporária do cérebro anterior em ratos. O tramadol proporciona um efeito cardioprotetor contra a RPI do miocárdio em corações isolados de ratos<sup>15</sup>. Wagner e cols.<sup>29</sup> sugeriram que o tramadol administrado a seres humanos em altas doses na verdade provocava lesões do miocárdio, com aumento da expressão da troponina 1 e diminuição da expressão induzível das sintases do óxido nítrico, possivelmente devido a um efeito serotoninérgico sistêmico indesejável nas artérias coronárias doentes.

Um estudo recente mostrou que uma isquemia de 2 h era suficiente para obter um grau considerável de lesão em músculos esqueléticos. A injeção intravenosa de 20 mg/kg de tramadol evitou esse efeito deletério<sup>16</sup>. De forma semelhante, descobriu-se que o tramadol, numa dose semelhante, era benéfico em lesões pulmonares induzidas por RPI de músculos esqueléticos através do pinçamento da artéria femoral<sup>17</sup>. Além disto, determinou-se que o tramadol (20 mg/kg) protegia contra lesões cerebrais causadas por RPI de membros posteriores em ratos<sup>18</sup>. Há evidências crescentes com relação aos efeitos benéficos do tramadol na melhora após RPI. Entretanto, seu papel na redução dos danos ao coração após RPI de músculos esqueléticos ainda não havia sido abordado.

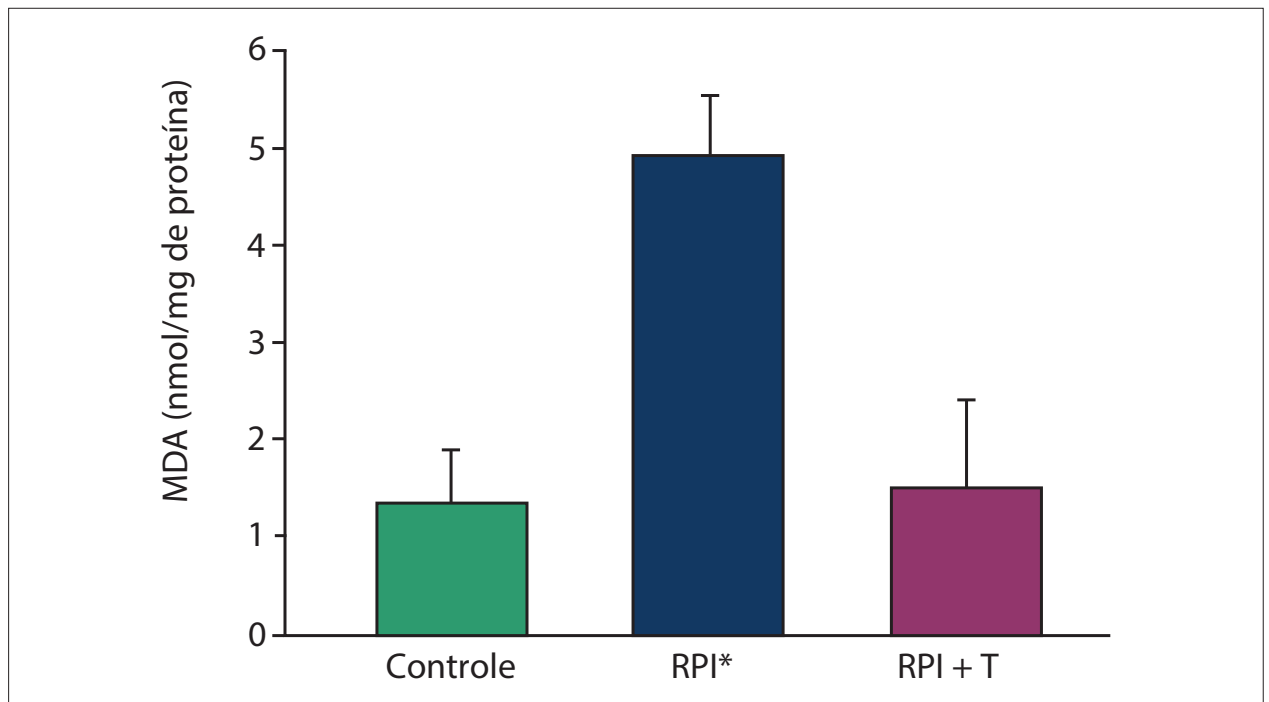


Figura 4 – MDA: malondialdeído (nmol/mg de proteína) no tecido cardíaco entre os grupos estudados. RPI: Reperusão pós-isquêmica; RPI+T: Reperusão pós-isquêmica + tramadol. Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. \*  $p < 0,00$ .

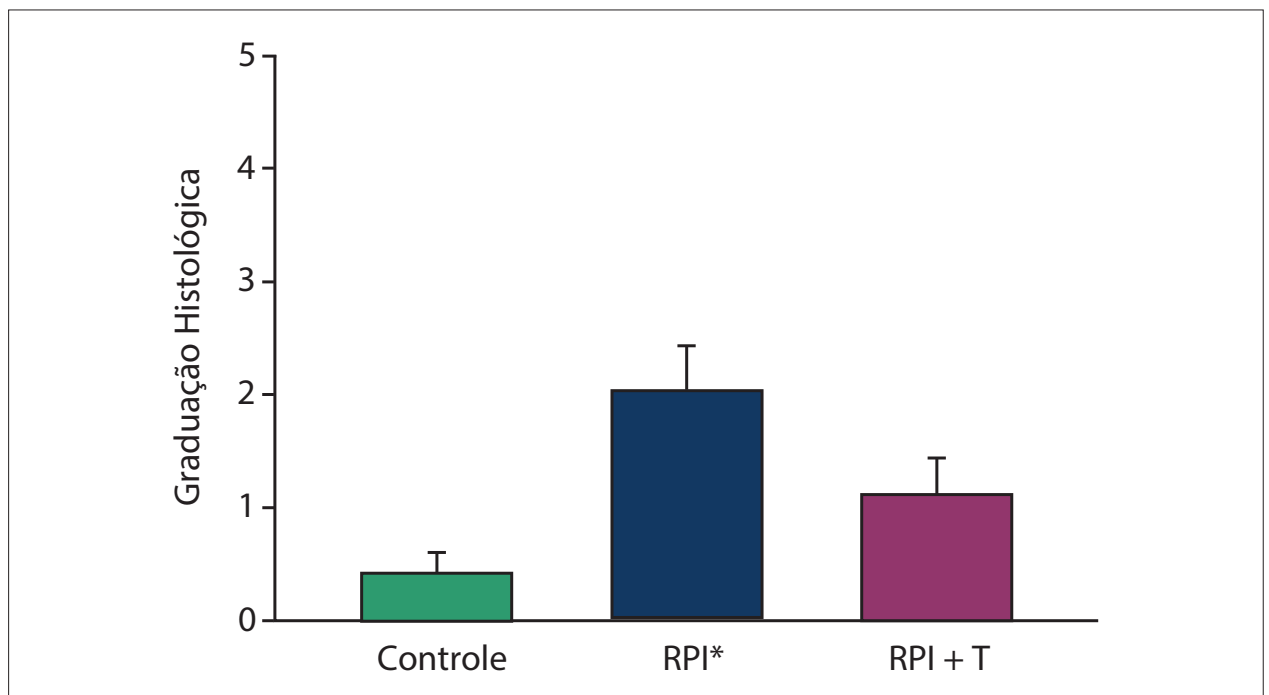
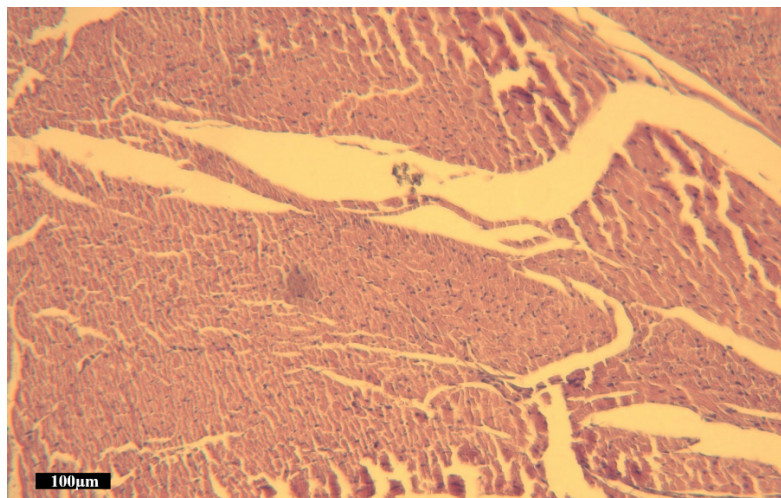
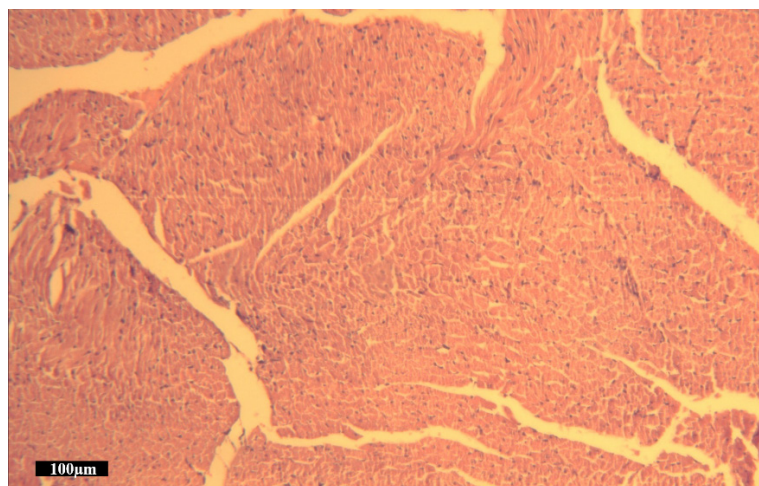


Figura 5 – Gradação histológica entre os grupos estudados. RPI: reperusão pós-isquêmica; RPI+T: Reperusão pós-isquêmica + tramadol. Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. \*  $p < 0,00$ .

## Artigo Original



**Figura 6** – Microfotografia do miocárdio no grupo com reperfusão pós-isquêmica, mostrando necrose coagulativa. As células musculares com núcleos picnóticos foram coradas mais profundamente pela eosina na área de necrose coagulativa (coloração por hematoxilina e eosina; traço de referência = 100 µm).



**Figura 7** – Microfotografia representativa do miocárdio no grupo com reperfusão pós-isquêmica + tramadol, mostrando uma estrutura quase normal (coloração por hematoxilina e eosina; traço de referência = 100 µm).

No nosso estudo, o potencial antioxidante do tramadol foi investigado analisando os teores de MDA, GPx, CAT e SOD no tecido miocárdico após RPI aguda de membros posteriores. O nível de MDA é um marcador da peroxidação de lipídios nos tecidos. A quantidade de MDA acumulado nos tecidos é um indicador da extensão da peroxidação de lipídios e do estresse oxidativo<sup>15,30</sup>. A presença de níveis reduzidos de MDA nos grupos que receberam tramadol, comparados aos outros grupos que sofreram RPI, apoia a hipótese de que o tramadol apresenta efeitos de redução

do estresse oxidativo, por remover radicais peroxila. Sabe-se que a atividade de GPx depende de níveis reduzidos de glutatona, glutatona-transferase e glutatona-redutase. As atividades destas enzimas desempenham um papel essencial na defesa celular contra os radicais livres<sup>15,30</sup>. Os dados quanto à SOD apoiam a probabilidade de um efeito antioxidante do tramadol. Os teores diminuídos de MDA e os níveis aumentados de atividade da SOD nos tecidos podem ser uma evidência de menor peroxidação de lipídios e de maior capacidade antioxidante.

A análise do miocárdio sob microscopia óptica revelou a presença de edema, infiltração por neutrófilos e necrose coagulativa no Grupo II, onde a incidência dessas lesões foi maior que no Grupo III. Isto demonstra que o tramadol tende a atenuar essas lesões; essa tendência é estatisticamente significativa. Esta observação é apoiada por Takhtfooladi e cols.<sup>27</sup>, que demonstraram que a oclusão temporária da artéria femoral de ratos resultou em alterações histológicas.

## Conclusão

Os resultados deste estudo confirmaram que a administração de tramadol diminuiu significativamente as lesões miocárdicas induzidas pela RPI de membros posteriores. Este efeito protetor do tramadol deve-se provavelmente a uma atividade anti-inflamatória. Ressaltamos a necessidade de estudos com o tramadol em seres humanos, que seriam hipoteticamente benéficos na prevenção de lesões a órgãos remotos, em especial durante intervenções cirúrgicas.

## Referências

1. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986;250(Pt1):749-53.
2. 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.
3. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 1994;81(5):637-47.
4. Rudiger HA, Clavien PA. Tumor necrosis factor-alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology.* 2002;122(1):202-10.
5. Yamagish Y, Horie Y, Kato S, Kajjara M, Tamai H, Granger DN, et al. Ethanol modulates gut ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282(4):G640-6.
6. Horton JW, White DJ. Free-radical scavengers prevent intestinal ischemia-reperfusion-mediated cardiac dysfunction. *J Surg Res.* 1996;64(1):19-25.
7. LaNoue JL, Turnage RH, Kadesky KM, Guice KS, Oldham KT, Myers SI. The effect of intestinal reperfusion on renal function and perfusion. *J Surg Res.* 1996;64(1):19-25.
8. Savas C, Ozguner M, Ozguner IF, Delibas N. Splenectomy attenuates intestinal ischemia-reperfusion-induced acute lung injury. *J Pediatr Surg.* 2003;38(10):1465-70.
9. 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.
10. Mayfield KP, D'Alecy LG. Delta-1 opioid receptor dependence of acute hypoxic adaptation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;268(1):74-7.
11. 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.
12. McPherson BC, Yao Z. Signal transduction of opioid-induced cardioprotection in ischemia-reperfusion. *Anesthesiology.* 2001;94(6):1082-8.
13. Ellmauer S, Dick W, Otto S, Muller H. Different opioids in patients at cardiovascular risk. Comparison of centrally and peripheral hemodynamic adverse effects. *Anaesthesist.* 1994;43(11):743-9.
14. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al. 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.
15. Bilir A, Erkasap N, Koken T, Gulec C, Kaggisiz Z, Tanriverdi B, et al. Effects of tramadol on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Scand Cardiovasc J.* 2007;41(4):242-7.
16. Takhtfooladi HA, Takhtfooladi MA, Karimi P, Abbasian Asl H, Mousavi Nasab Mobarakeh SZ. Influence of tramadol on ischemia-reperfusion injury of rats' skeletal muscle. *Inter J Surg.* 2014;12(9):963-8.
17. Takhtfooladi MA, Jahanshahi A, Sotoudeh A, Daneshi MH, Khansari M, Takhtfooladi HA. Effect of tramadol on lung injury induced by skeletal muscle ischemia-reperfusion: an experimental study. *J Bras Pneumol.* 2013;39(4):434-9.
18. Takhtfooladi MA, Jahanshahi A, Sotoudeh A, Daneshi MH, Aslami K, Takhtfooladi H. Neuroprotective effects of tramadol on cerebral injuries caused by hind limb ischaemia/reperfusion in rats. *Comp Clin Pathol* 2014;23:1141-6.
19. Papoutsidakis N, Arkadopoulou N, Smyrniotis V, Tzanatos H, Kalimeris K, Nastos K, et al. Early myocardial injury is an integral component of experimental acute liver failure—a study in two porcine models. *Arch Med Sci.* 2011;2(2):217-23.
20. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351-8.
21. Beutler E. Red cell metabolism. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Grune and Stratton Co., 1975.p. 261-5.
22. Guven A, Tunc T, Topal T, Kul M, Korkmaz A, Gundogdu G, et al.  $\alpha$ -Lipoic acid and ebselen prevent ischemia/reperfusion injury in the rat intestine. *Surg Today* 2008;38(11):1029-35.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Takhtfool HA, Shahzamani M. Obtenção de dados: Takhtfool MA. Análise e interpretação dos dados: Takhtfool HA, Allahverdi A. Análise estatística: Khansari M. Obtenção de financiamento: Takhtfool MA. Redação do manuscrito: Takhtfool MA. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Khiabani AH. Supervisão / como investigador principal: Shahzamani M. Análise Histológica: Khiabani AH. Ajuda com procedimentos técnicos: Allahverdi A.

## Potencial Conflito de Interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.



## Artigo Original

23. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004;49(9):1359-77.
24. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282(2):C227-41.
25. Deitch EA, Forsythe R, Anjaria D, Livingston DH, Lu Q, Xu DZ, et al. The role of lymph factors in lung injury, bone marrow suppression, and endothelial cell dysfunction in a primate model of trauma-hemorrhagic shock. *Shock* 2004;22(3):221-8.
26. Rotstein OD. Pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome: Gut origin, protection, and decontamination. *Surg Infect (Larchmt)* 2000;1(3):217-23.
27. Takhtfooladi MA, Jahanshahi G, Sotoudeh A, Jahanshahi A. Protective effects of N-acetylcysteine on myocardial injury induced by hind limb ischaemia reperfusion; Histological study in rat model. *Comp Clin Pathol* 2014; 23:1237-40.
28. 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.
29. Wagner R, Piler P, Bedanova H, Adamek P, Grodecka L, Freiberger T. Myocardial injury is decreased by late remote ischaemic preconditioning and aggravated by tramadol in patients undergoing cardiac surgery: a randomised controlled trial. *Interact. Cardiovasc. Thorac Surg*. 2010;11(6):758-62.
30. Polat A, Emre MH. Effects of melatonin or acetylsalicylic acid on gastric oxidative stress after bile duct ligation in rats. *J Gastroenterol*. 2006;41(5):433-9.