

ELCIO SHIYOITI HIRANO

**AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS METABÓLICAS,
HEMODINÂMICAS E SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DE
RATO COMO EFEITOS DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA
TOTAL APÓS CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO COM
USO DE DIFERENTES SOLUÇÕES DE REANIMAÇÃO**

CAMPINAS

2007

ELCIO SHIYOITI HIRANO

**AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS METABÓLICAS,
HEMODINÂMICAS E SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DE
RATO COMO EFEITOS DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA
TOTAL APÓS CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO COM
USO DE DIFERENTES SOLUÇÕES DE REANIMAÇÃO**

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de
Doutor em Cirurgia, área de concentração em
Cirurgia.*

ORIENTADOR: PROF. DR. MARIO MANTOVANI

CAMPINAS

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

H613a Hirano, Elcio Shiyoti
 Avaliação das variáveis metabólicas, hemodinâmicas e seqüestro de neutrófilos no rim de rato como efeitos da isquemia e reperfusão hepática total após choque hemorrágico controlado com uso de diferentes soluções de reanimação / Elcio Shiyoti Hirano. Campinas, SP : [s.n.], 2007.

Orientador : Mario Mantovani
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Isquemia. 2. Reperfusão (Fisiologia). 3. Neutrófilos. 4. Rim. 5. Fígado. I. Mantovani, Mario. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : Evaluation of the metabolic, hemodynamic parameters and neutrophils sequestration in the kidney of rats resultanting from total hepatic ischemia and reperfusion after controlled hemorrhagic shock with use of different solutions to reanimaton

Keywords: • Ischemia
 • Reperfusion
 • Neutrophils
 • Kidney
 • Liver

Área de concentração : Cirurgia

Titulação: Doutorado em Cirurgia

**Banca examinadora: Prof Dr Mario Mantovani
 Prof Dr Edivaldo Massazo Utiyama
 Profa. Dra. Silvia Cristine Solda
 Prof Dr Sebastião Araújo**

Data da defesa: 23-02-2007

Banca examinadora da tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Mario Mantovani

Membros:

1. Prof. Dr. Mario Mantovani

2. Prof. Dr. Sebastião Araújo

3. Prof. Dr. Edivaldo Massazo Utiyama

4. Prof. Dr. Gaspar de Jesus Lopes Filho

5. Prof^a. Dr^a. Silvia Cristine Soldá

[Handwritten signatures and names corresponding to the list members]
Sebastião Araújo
Edivaldo Massazo Utiyama
Gaspar de Jesus Lopes Filho
Silvia Cristine Soldá

200741977

DEDICATÓRIA

A minha esposa Elaine, pela paciência, compreensão e carinho que me demonstrou durante a realização de mais um degrau neste

Curso de pós-graduação em Cirurgia, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A minha filha Thais, minha nova inspiração

Data: 23/02/2007

DEDICATÓRIA

À minha esposa Elaine, pela paciência, compreensão e carinho que me demonstrou durante a realização de mais um degrau neste meu sonho.

À minha filha Thaís, minha nova inspiração.

AGRADECIMENTOS

Ao mestre, Prof. Dr. Mario Mantovani, por me acolher em sua Disciplina como aluno de Pós-Graduação, onde durante todo este período transmitiu-me conhecimentos científicos e pessoais, fatores que constituíram a essência da minha motivação e dedicação na realização deste trabalho, e soube com nitidez apresentar-me os principais conceitos para iniciação da carreira universitária.

À Dra. Rosana Celestina Morandin, bióloga, pela sua paciência, dedicação e colaboração de modo persistente, oferecendo-me toda condição técnica durante a elaboração deste projeto.

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes e William Adalberto Silva e aos técnicos Miguel Luiz Cândido e Waldemir Benedito Costa, do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental, pelos ensinamentos transmitidos e a amizade durante este convívio.

Ao Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo, que durante todo este período soube me transmitir os conceitos primordiais dentro da carreira universitária.

Aos colegas e amigos, Dr. Carlos Alberto Salomão Muraro e Dr. Hilton Mazzini, por me terem orientado nos primeiros movimentos com o instrumental cirúrgico, como na postura e comportamento na formação do âmago de um médico.

Aos colegas e amigos da Disciplina de Cirurgia do Trauma da Unicamp, Dr. Waldemar Prandi Filho, Dr. Jorge Machado Curi, Dr. Luiz A. Albejante, Dr. José B. Bortoto, Prof. Dr. Gustavo Fraga, Dr. Guilherme V. Meirelles e Dr. Marcelo Villaça, pelos ensinamentos e a agradável amizade no convívio universitário.

Ao colega e amigo Dr. Mario Costa Couto que foi uma inspiração durante a residência médica.

Aos colegas e amigos Dr. Adriano Marcelo Ramon Chaves, Dr. Marcelo Kassouf, Dra. Rosimara Denaldi e Dr. Marco A. Teixeira, Dr. Gustavo Trindade, Dra. Tatiana Paschoalato, Dra. Elisângela Franco Nonato, Dr. Marco Restituti, Dr. Marco Spirocolus e Sr. Manoel Azevedo, pela amizade e o carinho demonstrado de forma constante.

Aos colegas Prof. Dr. Paulo Madureira, Dra. Mirella Povielli, Dr. Roberto Chaves, Dra. Patrícia Asfora F. Ron, Dr. Marcelo Nardi Pedro, Dr. Eduardo Sellan Lopes Gonçalves, Dra. Daniela Oliveira Camargo, Dr. Luis Gustavo Cardoso, Dra. Norma E. Contreras Mancilla, Dra. Beatriz Vieira Caputo, Dr. Rodrigo Delfino dos Reis, Dra. Junia Rezende Gonçalves, Dra. Patrícia do Amaral Gonçalves, Dr. Marco Roberto da Silva, Dr. Rodrigo Caldas Ramos da Silva, Dr. Reinaldo Alexandre Massucio, Sra. Maria José B. Neder, Sra. Silvana Kon, Enf^a Fátima Mei e demais integrantes da equipe do Pronto Socorro do HC – Unicamp, que, diariamente, no esforço mútuo, desempenham papel fundamental no atendimento e cuidados aos pacientes e familiares que procuram o nosso auxílio.

Aos meus irmãos Fábio e William, pela união e amizade nos momentos difíceis que a vida nos trouxe e juntos conseguimos transpô-los.

Desde as minhas primeiras recordações agradeço ao meu pai, Shiyojiro Hirano, por me ensinar que a família faz parte do coração e da existência de uma pessoa.

“Lembre-se com prazer dos momentos em que você sentiu profunda satisfação no trabalho: quando você teve uma idéia brilhante, participou de um grupo de trabalho amigável, descobriu a resposta para uma questão complicada, sentiu o bom cansaço de um dia bem vivido.”

Daniel Grippio

	<i>Pág.</i>
RESUMO	<i>xv</i>
ABSTRACT	<i>xviii</i>
1- REVISÃO DA LITERATURA	20
1.1- Introdução	21
1.2- Manobra de Pringle	23
1.3- Isquemia e reperfusão tecidual	23
1.4- Células polimorfonucleares - neutrófilos	26
2- OBJETIVOS	30
3 MÉTODO	32
3.1- Local da pesquisa	33
3.2- Animais	33
3.3- Modelo de pesquisa	33
3.4- Anestesia	34
3.5- Procedimentos	34
3.6- Cateterizações	34
3.7- Grupos de estudos	35
3.8- Choque hemorrágico controlado	35
3.9- Reanimação volêmica no final da fase do CHC	36
3.10- Débito cardíaco, índice cardíaco, índice de resistência vascular sistêmica	37
3.11- Laparotomia e manobra de Pringle	37
3.12- Monitorização, controles e amostras	39

3.13- Dosagem do lactato sanguíneo.....	41
3.14- Determinação do equilíbrio ácido-básico, eletrólitos, hematócrito e hemoglobina.....	41
3.15- Eutanásia dos animais.....	41
3.16- Retirada dos órgãos.....	41
3.17- Contagem de neutrófilos no rim à microscopia óptica.....	42
3.18- Método estatístico.....	43
4- RESULTADOS.....	45
4.1- Animal de experimentação.....	46
4.2- Análise inicial das variáveis.....	46
4.3- Estabelecimento do CHC.....	47
4.4- Análise das variáveis no final do CHC.....	48
4.5. Reanimação volêmica.....	48
4.6- Manobra de Pringle.....	49
4.7- Análise das variáveis no final do período da MP.....	50
4.8- Análise das variáveis no PR60.....	50
4.9- Volume médio total utilizado em cada grupo.....	51
4.10- Gráficos de evolução das variáveis.....	52
4.11- Sobrevida.....	61
4.12- Seqüestro de neutrófilos no córtex renal do rato.....	63
5- DISCUSSÃO.....	65
5.1- Considerações Finais.....	76
6- CONCLUSÕES.....	78
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
8- ANEXOS.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS

CEEA	Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEMIB	Centro de Bioterismo
CH	Choque hemorrágico
CHC	Choque hemorrágico controlado
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DC	Débito cardíaco
ECG	Eletrocardiograma
FC	Frequência cardíaca
FR	Frequência respiratória
GRL	Grupo Solução Ringer com lactato
GSF	Grupo solução fisiológica
GSH	Grupo solução hipertônica
Hb	Hemoglobina
HE	Hematoxilina-eosina
Hto	Hematócrito
IC	Índice cardíaco
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IRVS	Índice de resistência vascular sistêmica
K	Potássio
LICIT	Laboratório de Investigação em Cirurgia do Trauma
ml	Mililitros
MP	Manobra de Pringle

Na	Sódio
NMCE	Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental
NTF	Neutrófilos
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAM40	Pressão arterial média de 40 mmHg
PAM60	Pressão arterial média de 60 mmHg
PAM80	Pressão arterial média de 80 mmHg
PR	Período de reperfusão
PR120	Período de reperfusão de até 120 minutos
PR60	Período de reperfusão de 60 minutos
PVC	Pressão venosa central
RB	Reserva de base
RLaq	Solução de Ringer com lactato aquecido
SC	Superfície corpórea
SDMO	Síndrome da disfunção de múltiplos órgãos
SFaq	Solução fisiológica aquecida
SHaq	Solução hipertônica aquecida
SRIS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TR	Temperatura retal

LISTA DE TABELAS

	<i>Pág.</i>
Tabela 1- Valores médios dos pesos dos animais por grupo.....	46
Tabela 2- Valores médios iniciais das variáveis.....	46
Tabela 3- Tempo médio para instalação do CHC.....	47
Tabela 4- Volume médio retirado para instalação do CHC.....	47
Tabela 5- Valores médios das variáveis no final do CHC.....	48
Tabela 6- Volume médio utilizado na reanimação pós CHC.....	49
Tabela 7- Volume médio utilizado durante MP.....	49
Tabela 8- Valores médios das variáveis no final da MP.....	50
Tabela 9- Valores médios das variáveis no PR60.....	51
Tabela 10- Volume médio total utilizado em cada grupo.....	51
Tabela 11- Tempo médio de sobrevivência.....	62
Tabela 12- Contagem de neutrófilos/campo no córtex renal do rato.....	63
Tabela 13- Comparação da porcentagem em relação ao peso do corpo de diversos órgãos em ratos e em seres humanos.....	72

LISTA DE FIGURAS

	<i>Pág.</i>
Figura 1A- Seta mostra a veia porta no ligamento hepatoduodenal.....	38
Figura 1B - Realização da manobra de Pringle (pinçamento do pedículo hepático).....	38
Figura 2 - Desenvolvimento do estudo experimental.....	40
Figura 3- As setas indicam os campos examinados, conforme a seqüência demonstrada. Fotomicrografia do rim direito. HE 100x	43
Figura 4- Demonstra a presença do NTF (seta) no interstício do córtex renal do rato. HE 1000x.....	64

	<i>Pág.</i>
Gráfico 1- Evolução da frequência cardíaca.....	52
Gráfico 2- Evolução do índice cardíaco.....	53
Gráfico 3- Evolução da resistência vascular sistêmica.....	54
Gráfico 4- Evolução do pH.....	55
Gráfico 5- Evolução da reserva de base.....	56
Gráfico 6- Evolução do lactato.....	57
Gráfico 7- Evolução do bicarbonato.....	58
Gráfico 8- Evolução do sódio (Na).....	59
Gráfico 9- Evolução do potássio (K).....	60
Gráfico 10- Evolução do hematócrito (Ht).....	61
Gráfico 11- Curvas de sobrevida.....	62



RESUMO

No Brasil, o trauma é uma das principais causas de mortalidade do adulto jovem e o choque hemorrágico é uma das situações críticas que está presente na maioria dos traumatizados graves. Dependendo da duração e intensidade, o choque hemorrágico torna-se responsável pela instalação da síndrome da resposta inflamatória sistêmica, ativando os neutrófilos que aderem ao endotélio e, por diapedese, seqüestram-se no interstício dos órgãos, onde iniciam a produção de radicais livres (O_2^-) estabelecendo lesão tecidual local.

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar o seqüestro de neutrófilos no rim de rato, como efeito da isquemia e reperfusão hepática total após estado de choque hemorrágico controlado, com uso de diferentes soluções eletrolíticas.

Utilizou-se 18 ratos Wistar, machos, adultos, divididos em três grupos conforme a solução utilizada para reanimação: Grupo SF: solução fisiológica; Grupo SH: solução hipertônica de NaCl a 7,5% seguido pela solução de Ringer com lactato; Grupo RL: solução de Ringer com lactato. Todos os animais foram submetidos à sangria controlada até a pressão arterial média (PAM) atingir 40 mmHg, permanecendo assim por 20 minutos. Realizou-se reanimação volêmica até PAM=80 mmHg com a solução conforme o grupo estudado. Em seguida realizou-se uma laparotomia e a manobra de Pringle por 15 minutos. Os animais foram acompanhados até duas horas.

A eutanásia dos animais foi realizada com exsanguinação pelo cateter posicionado na artéria femoral esquerda.

Os parâmetros hemodinâmicos e metabólicos foram avaliados para caracterização do estado de choque controlado: pressão arterial média, frequência cardíaca, índice cardíaco, índice de resistência vascular sistêmica, pH, bicarbonato, reserva de base, lactato e eletrólitos.

Para comparações estatísticas entre as contagens de neutrófilos, no interstício do córtex renal, foram efetuados os testes ANOVA e a análise de covariância, ajustando-se para o tempo de sobrevida.

O volume de reanimação utilizado no tratamento do choque hemorrágico foi menor no GSH em comparação ao GRL, entretanto sem diferença estatística com GSF.

O GSH apresentou maior nível de lactato em 60 minutos de reperfusão em relação ao GSF, entretanto sem diferença estatística com GRL.

Os valores médios de tempo de sobrevivência, em minutos, por grupo foram: Grupo SF: $79,0 \pm 12,0$; Grupo RL: $97,0 \pm 11,0$; Grupo SH: $67,0 \pm 10$. Os valores médios da contagem de neutrófilos/campo no córtex renal foram: Grupo SF: $0,55 \pm 0,68$; Grupo RL: $1,68 \pm 0,53$; Grupo SH: $1,33 \pm 0,43$. E, quando são ajustados para o tempo de sobrevivência, encontraram-se: Grupo SF: 0,55; Grupo RL: 1,62; Grupo SH: 1,39.

O GSF apresentou diferença estatística na contagem de neutrófilos com os demais, usando-se ou não o ajuste pelo tempo de sobrevivência ($p=0,016$ e $p=0,0128$).



ABSTRACT

In Brazil, the trauma is the main cause of death in young adults and hemorrhagic shock is one of the critical situations present in the major traumatism. Depending on duration and intensity, the hemorrhagic shock becomes responsible for the beginning of the systemic inflammatory response syndrome, activating neutrophils, which adhere to endothelium and for diapedesis sequestration on interstitium of the organs, where they initiate the production of free radicals (O_2^-), and promoting local lesion.

The goal in this present study was to evaluate and compare neutrophils sequestration in the renal cortex of rats resultant from total hepatic ischemia and reperfusion after controlled hemorrhagic shock, with use of different electrolytic solutions.

Eighteen male adult rats Wista were divided into three equal groups according to the solution used to reanimation: Group PSS: physiologic saline solution; Group HSS: hypertonic saline hypertonic (7,5%) followed by lactated ringer's solution; Group LRS: lactated Ringer's solution. All animals were submitted to controlled bleeding maintaining mean arterial pressure (MAP) around 40 mmHg for 20 minutes. Volume infusion was performed to obtain and maintain a MAP=80 mmHg with the specific solution according to the studied group, followed by laparotomy and Pringle's maneuver for 15 minutes. The animals were observed until for two hours.

The euthanasia of animals was performed by exsanguination via left femoral artery.

The hemodynamic parameters were: MAP, heart rate, cardiac index, systemic vascular resistance index. The analyzed serum metabolic variables were: pH, bicarbonate, base deficit, lactato and electrolytes.

For statistical comparisons between mean of neutrophils sequestration in interstitium of the renal cortex, One-way ANOVA and covariance analysis were used, adjusting itself for time of supervened.

The mean total volume replacement for hemorrhagic shock was lesser in Group HSS than in Group LRS, and these values were not statistically significant different from Group PSS.

The Group HSS demonstrated greater lactate mean values at 60 minutes of reperfusion compared with Group PSS (p=NS in relation to Group LRS).

The mean values of supervened, in minutes, for group were: Group PSS 79.0 ± 12.0 ; Group LRS 97.0 ± 11.0 ; Group HSS 67.0 ± 10 . The mean values of neutrophils/field in the renal cortex were: Group PSS 0.55 ± 0.68 ; Group LRS 1.68 ± 0.53 ; Group HSS 1.33 ± 0.43 . When adjusted for time of supervened: Group PSS 0.55; Group LRS 1.62; Group HSS 1.39.

There was statistically significant difference in neutrophils sequestration between Group PSS regarding the other groups, using itself or not the adjustment by time of supervened ($p=0,016$ and $p=0,0128$).



***1- REVISÃO DA
LITERATURA***

1.1- Introdução

A palavra *shock* foi utilizada pela primeira vez, na literatura internacional, em 1754, por SPARROW, na tradução de uma obra francesa de HENRI FRANÇOIS LÊ BRAN, com título de *A treatise of reflections drawn from experience with gunshot wounds* (THAL et al, 1977; DRUMMOND,1996).

Em 1831, THOMAS LATTA descreveu uma forma de tratamento da hipovolemia causada por cólera, através da administração intravenosa de uma solução salina, alcançando melhora do quadro clínico do paciente.

CRILE, em 1889, publicou o primeiro estudo experimental do choque. Nesse trabalho o autor demonstrou as seguintes observações, que atualmente possuem relação conceitual com o choque: inter-relação entre o tempo cirúrgico e a ocorrência de choque; sangramento precedente ao ato cirúrgico reduzia a sobrevida do animal aos ferimentos; alteração da respiração conforme instalação do choque; resposta do animal em choque à infusão de salina morna. Essa última observação fez com que CRILE concluísse que a função cardíaca era a última a se tornar insuficiente (DRUMMOND, 1996).

HENDERSON, em 1908, definiu: “A pressão venosa é, por assim dizer, o ponto de apoio da circulação. O choque, conforme o cirurgião usa a palavra, é devido à falha deste ponto de apoio. Devido à redução do suprimento venoso, o coração não se distende adequadamente e de maneira concreta, durante a diástole”.

CANNON, em 1918, evidenciou correlação entre a queda da pressão arterial com consumo da reserva de base devido ao acúmulo de ácidos fixos (ácido láctico) resultante da má perfusão tecidual, promovendo a acidose. Observou que a administração de bicarbonato de sódio nos pacientes em choque demonstrou melhora significativa dos parâmetros metabólicos, concluindo que é essencial a administração de líquidos intravenosos na reanimação do estado de choque em pacientes críticos.

DUCASTAING, em 1919, utilizando nitrito de amilo obteve retorno dos pulsos periféricos durante o choque, fato que evidenciou a presença de vasoconstrição periférica.

A correlação entre hipovolemia e choque traumático foi demonstrada em estudo experimental por ALFRED BLALOCK, em 1930, que observou a queda da pressão arterial devido ao acúmulo de sangue e líquido em torno de uma lesão. Nesse trabalho classificou o choque hemorrágico em quatro categorias: 1) hematogênica; 2) neurogênica; 3) vasogênica e 4) cardiogênica. Com isto, iniciava-se o conceito da fisiopatologia do choque hemorrágico baseado em má perfusão tecidual.

A isquemia tecidual, no choque hipovolêmico, causa diminuição da oferta do oxigênio e da glicose promovendo diminuição do metabolismo oxidativo, iniciando o processo de anaerobiose com utilização do piruvato como fonte energética e, conseqüentemente, causando hiperlactemia. (CADY *et al.*, 1973; DAVIS *et al.*, 1988; ANDERSON e VASLEF, 1999). Esta situação desencadeia a produção de citocinas pró-inflamatórias, responsáveis pela manifestação clínica das síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), que precede a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO) (LEE *et al.*, 2001).

No trauma, a lesão hepática grave é acompanhada de grande perda de sangue promovendo um quadro de choque hipovolêmico e, conseqüentemente, isquemia tecidual sistêmica. O controle do sangramento no trauma hepático grave pode ser realizado através da manobra de Pringle (MP), que consiste na oclusão temporária da tríade portal (artéria hepática, ducto biliar comum e veia porta) localizada no ligamento hepatoduodenal (PRINGLE, 1908). Essa manobra permite que a equipe médica realize a recuperação hemodinâmica do paciente e facilita a identificação da lesão sangrante. Entretanto, promove isquemia hepática e congestão venosa no leito esplâncnico que, posteriormente, resulta em isquemia intestinal (AKAGI e AKAGI, 1992; GONCE *et al.*, 1995; HIRANO *et al.*, 1999). Essa isquemia causa lesão na barreira epitelial da mucosa intestinal, promovendo a translocação bacteriana, a absorção de endotoxinas e o aumento da produção de mediadores inflamatórios que atuam no local e em órgãos distantes (BITTERMAN *et al.*, 1996).

1.2- Manobra de Pringle

Os modelos experimentais de isquemia e reperfusão hepática em ratos baseiam-se em isquemia parcial, total, parcial intermitente e total intermitente. HAYASHI *et al.* (1986) demonstraram que após isquemia parcial não houve retorno do fluxo sanguíneo de modo uniforme. Os lobos hepáticos previamente isquêmicos receberam 50% do fluxo sanguíneo, enquanto os não isquêmicos tiveram 134%. A isquemia intermitente parcial por um período de até 15 minutos não promoveu lesões irreversíveis (HORIUCHI *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 1998). A literatura relata que na isquemia hepática total intermitente, quando se realizam ciclos de 15, 30 e 60 minutos em ratos, em condições normais, a sobrevivência é de 90, 90 e 30%, respectivamente. Nessas condições, ocorre menor produção de radicais livres em comparação à MP contínua (ISOZAKI *et al.*, 1995; UCHINAMI *et al.*, 1998). No modelo experimental de isquemia total, MARUBAYASHI *et al.*, (1986) realizaram anastomose entre o ramo cecal da veia porta e a veia jugular, enquanto ISOZAKI *et al.* (1992) a realizaram entre as veias cava e porta. Essas anastomoses vasculares têm como objetivo diminuir a congestão venosa esplâncnica.

O tempo de permanência da oclusão da tríade portal é discutível, havendo vários relatos na literatura sobre o limite máximo seguro, uma vez que a lesão que ocorre no período de reperfusão hepática é diretamente proporcional à duração da isquemia (DELVA *et al.*, 1989; PACHTER *et al.*, 1992; RODRIGUES *et al.*, 1991; KOMATSU *et al.*, 1992). A MP acima de 30 minutos de modo contínuo é potencialmente letal (MEIJA, 1964; GONCE *et al.*, 1995).

1.3- Isquemia e reperfusão tecidual

Os radicais livres e citocinas produzidos no fígado, além dos efeitos lesivos locais, possuem ação em órgãos distantes. Há outras alterações como: depressão miocárdica, bradicardia, queda da pressão arterial média (PAM), diminuição da resistência vascular sistêmica, assim como aumento da pressão venosa central (PVC) e da pressão arterial pulmonar média. Essas alterações são acompanhadas por hipercalemia (AGGARWAL *et al.*, 1987).

Os parâmetros clínicos como pressão arterial, PVC e frequência (FC) são frequentemente utilizados para avaliar o estado de choque, porém podem sofrer influências da resposta compensatória e de medicações de uso contínuo ou administradas durante o atendimento (DAVIS, 1994; SHAH *et al.*, 1998; WILSON *et al.*, 2003).

A monitorização da reanimação volêmica de pacientes com choque hemorrágico através da PVC deve ser cuidadoso, pois a normalização dessa variável é tardia, portanto, pode ocorrer um estado de hipervolemia (McNAMARA *et al.*, 1983). Entretanto, a perda aguda de volume sangüíneo promove uma diminuição da distendibilidade ventricular, o que causa aumento dos níveis da PVC, não refletindo a hipovolemia (WILSON *et al.*, 2003).

A literatura demonstra que o lactato é um ótimo parâmetro bioquímico para avaliar o estado de choque e a reanimação (BRODER e WEIL, 1964; BLAIR *et al.*, 1965; VITEK e COWLEY, 1971; JENG *et al.*, 1997; PORTER e IVATURY, 1998; SHAH *et al.*, 1998; MOOMEY *et al.*, 1999; CHIARA, *et al.*, 2001; WILSON *et al.*, 2003; HIRANO *et al.*, 2003).

A duração e a intensidade da hiperlactemia são importantes preditores de mortalidade e morbidade. Quando seus níveis atinge valores acima 4 mmol/L, o lactato sérico está associado com sobrevida de 11% em pacientes críticos (BRODER e WEIL, 1964; MANIKIS *et al.*, 1995). VINCENT *et al.* (1983) relataram que uma queda maior que 5% do nível do lactato inicial na primeira hora após a reanimação volêmica, associou-se com 100% de sobrevivência. Outro estudo demonstrou resultados semelhantes quando o nível de lactato se normalizou dentro das primeiras 24 horas, sendo que após 48 horas apresentou uma sobrevida de 14% (ABRAMSON *et al.*, 1993). Os valores de referência do lactato são:

a) sangue venoso : 0,5 – 2,2 mmol/L ou 4,5 – 19,8 mg/dL

b) sangue arterial: 0,5 – 1,6 mmol/L ou 4,5 – 14,4 mg/dL

Valor emergencial (risco imediato de morte): > 45,0 mg/dL

A hiperlactemia pode ocorrer sem isquemia tecidual, como na insuficiência hepática, que retarda a depuração, ou no alcoolismo agudo (ANDERSON e VASLEF, 1999).

Outro parâmetro metabólico utilizado para avaliação do choque hemorrágico e da reanimação é a mensuração da reserva de base (RB) ou “*base excess*” (DAVIS *et al.*, 1988; DAVIS, 1994; KINCAID *et al.*, 1998; CHIARA *et al.*, 2001; WILSON *et al.*, 2003; HIRANO *et al.*, 2003; HIRANO *et al.*, 2005). A gravidade do consumo da RB pode ser classificada: (DAVIS *et al.*, 1988):

- a) Leve: -3 a -5 mEq/L
- b) Moderado: -6 a -14 mEq/L
- c) Severo: \leq -15 mEq/L

Dependendo da duração e da intensidade do choque hemorrágico, ocorrem alterações eletrolíticas: aumento de sódio intracelular como resultado da perda de potássio para o meio extracelular (CUNNIGHAM *et al.*, 1971).

Desde que se preconizou a infusão de líquidos intravenosos para tratamento do estado de choque hemorrágico, diversos trabalhos na literatura estudam e/ou demonstram qual a melhor solução a ser utilizada para a reanimação volêmica com menores efeitos deletérios ao organismo. Nos últimos anos, as diretrizes na abordagem da reanimação do choque hipovolêmico receberam várias modificações, baseadas nas experiências civis e militares (YOUNES e BIROLINI, 2002).

Dessa forma, diversas controvérsias persistem quanto à indicação de o uso de cristalóides ou colóides para reanimação volêmica.

A utilização de cristalóides apresenta benefícios como (VIRGILIO *et al.*, 1979; TRANBAUGH *et al.*, 1982):

- a) a expansão do espaço extracelular é mais efetiva, com menor aumento de líquido no meio extravascular pulmonar;

- b) menor risco de reação anafilática;
- c) menor custo.

CHOI *et al.*, (1999) demonstraram em uma meta-análise de 17 estudos com 814 pacientes que não houve diferença estatística entre a utilização de solução cristalóide ou colóide com relação à taxa de mortalidade, incidência de edema pulmonar e tempo de internação. Entretanto, nesse estudo, quando se analisou o subgrupo de pacientes vítimas de trauma, a solução cristalóide apresentou índice estatisticamente menor de mortalidade em relação ao uso de colóide.

A reanimação volêmica tem como objetivos:

- a) prevenir a alta produção de radicais livre;
- b) diminuir a intensidade da SIRS;
- c) inibir a ativação e adesão dos neutrófilos;
- d) restaurar a microcirculação dos órgãos.

Com esses objetivos, estudos na literatura demonstraram que o uso da solução de Ringer com lactato, na presença ou não de choque hemorrágico (CH), apresentou maior ativação dos neutrófilos em relação às demais soluções (RHEE *et al.*, 1998)

Outros autores demonstraram que o uso de soluções hipertônicas restaura os parâmetros hemodinâmicos de modo mais eficaz que a solução de Ringer com lactato, além de promoverem menor adesão dos neutrófilos no endotélio (JONAS *et al.*, 2000).

1.4- Células polimorfonucleares - neutrófilos

O estado de choque e a reanimação volêmica são considerados como fenômenos de isquemia e reperfusão, sendo uma das características a produção de radicais livres, em particular o ânion superóxido (O_2^-) (AMBROSIO *et al.*, 1987; LIU *et al.*, 1994, AYALA *et al.*, 1991). Esses eventos perpetuam um ciclo de injúria orgânica iniciado pela SRIS, podendo evoluir posteriormente para SDMO (DEB *et al.*, 1999).

Durante o período de reperfusão tecidual há maior produção de radicais livres e citocinas pelos neutrófilos (NTF) ativados, aumentando a lesão pré-existente ocasionada pela isquemia.

Os NTF, mediante estímulos (bactérias, vírus, parasitas ou moléculas inertes) ou estresse (trauma), atuam como defesa do organismo através da quimiotaxia, aderência ao endotélio vascular, a fagocitose e a atividade bactericida (VEDDER *et al.*, 1989; ANDERSON *et al.*, 1991a; LORENZI, 1991). As funções dos NTF só serão exercidas desde que eles estejam “ativados” por um estímulo e, diante disso, tais células podem se encontrar em quatro situações: quiescentes, sensibilizadas, ativadas e não responsivas (BOTHA *et al.*, 1995a).

Outras substâncias produzidas pelos NTF ativados incluem: enzimas granulares (exemplos: mieloperoxidase e elastase), lipídeos bioativos e citocinas (RUBIN *et al.*, 1990; WARD, 1993; GRACE, 1994; FUJISHIMA e AIKAWA, 1995; WEIGHT *et al.*, 1996).

Segundo METCHNIKOFF (1887) (*apud* ANDERSON *et al.*, 1991b), os PMN em hiperatividade estão diretamente relacionados com o processo inflamatório através da produção de radicais livres de oxigênio. Além dessas substâncias, as enzimas proteolíticas conjuntamente lesam o tecido, dando início à SRIS, que constitui elemento essencial da SDMO (ANDERSON & VASLEF, 1999).

No aspecto clínico, a SRIS e a SDMO caracterizam-se (ANDERSON e VASLEF, 1999; AM COLL CHEST PHYS/SOCIETY CRIT CARE MED, 1992):

- SRIS: por dois ou mais dos seguintes achados como: temperatura superior a 38°C ou menor que 36°C, frequência cardíaca superior a 90 batimentos por minuto, frequência respiratória superior a 20 incursões por minuto ou PaCO₂ abaixo de 32 mmHg e leucometria maior que 12.000/mm³ ou inferior 4.000/mm³ ou mais que 10% de formas imaturas.
- SDMO: presença de função orgânica alterada na qual a homeostase não pode ser mantida sem intervenção.

No processo de adesão e diapedese dos NTF no endotélio têm-se como moduladores os receptores que se dividem em selectinas, integrinas e superfamílias das imunoglobulinas. A interação da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) do leito vascular com os complexos CD11/CD18 dos NTF promove a aderência desses com a célula endotelial (BARNETT *et al.*, 1995). A inibição dos efeitos da selectina P, ICAM-1 e do complexo CD11/CD18 são recursos que reduzem ou neutralizam os danos originados da isquemia e reperfusão tecidual (GUTE e KORTHUIS, 1995; GRANGER e KORTHUIS, 1995; PANES e GRANGER, 1998; KORTHUIS *et al.*, 1999).

BOTHA *et al* (1995b) relatam que o número de NTF circulantes aumenta nas primeiras horas após o início da instalação da SDMO, mas diminui acentuadamente após seis a 12 horas, sugerindo seqüestro nos tecidos.

Em modelo experimental com ratos foi demonstrada neutrofilia nas primeiras quatro horas após a lesão, portanto sem infecção instalada, considerando apenas o estímulo para uma resposta inflamatória (EURENIUS e BROUSE, 1973).

O número total de polimorfonucleares do corpo humano no sistema vascular é composto por dois grupos equivalentemente iguais: um correspondente às células circulantes e o outro às aderidas ao endotélio. O aumento de NTF na corrente sanguínea é devido a duas situações (BOTHA *et al.*, 1995b):

- a) desmarginalização pela ação das catecolaminas;
- b) mobilização da medula óssea pela ação dos corticosteróides.

Em situações de grande estresse, como exemplo o traumatizado grave, ocorre a liberação de cerca de 1×10^6 NTF/segundo pela medula óssea (BOTHA *et al.*, 1995b). O número de NTF na corrente sanguínea está inversamente relacionado ao tempo de isquemia (GONCE *et al.*, 1995).

O trauma é um estímulo que aumenta o número de NTF circulante, os quais são ativados, e, quando ocorre a associação do CH, há uma potencialização desse estímulo. Com a ativação dessas células ocorre portanto, o seqüestro no interstício dos tecidos, promovendo a neutropenia (ERIKSSON *et al.*, 1979; BOTHA *et al.*, 1995b).

Mediante a exposto, os neutrófilos ativados seqüestram-se indiscriminadamente em tecidos normais ou lesados, ressaltando que possuem participação fundamental no desenvolvimento da SRIS, que conforme a sua duração e intensidade, podem evoluir para SDMO.



2- OBJETIVOS

Isto posto, o objetivo deste estudo foi avaliar a repercussão em variáveis metabólicas, hemodinâmicas e o sequestro de neutrófilos no rim de rato como efeitos da isquemia e reperfusão hepática total seguido de choque hemorrágico controlado, utilizando diferentes soluções na reanimação.



3- MÉTODO

3.1- Local da pesquisa

O estudo foi realizado no Laboratório de Investigação em Cirurgia do Trauma (LICIT), da Disciplina de Cirurgia do Trauma do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, localizado no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.

O protocolo (Anexo 1) foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-Unicamp (protocolo nº 363-1).

3.2- Animais

Foram utilizados neste trabalho experimental 18 ratos machos adultos da linhagem Wistar, com pesos que variaram de 185 a 240 gramas, com idade de aproximadamente sete semanas.

Os animais foram fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB), mantidos em condições ambientais controladas de luminosidade e temperatura, recebendo dieta padrão do LICIT, constituída da ração Nuvilab CR-1 (Nuvital Nutrientes Ltda., Paraná, Brasil), e água “ad libitum”, por um período de uma semana, para aclimação no biotério, antes do início do experimento. Foram submetidos a um jejum de 12 horas na noite anterior ao experimento.

3.3- Modelo de pesquisa

Foi baseado em estudos anteriores realizados no LICIT dentro de suas linhas de pesquisas (MANTOVANI *et al.*, 2002; MANTOVANI *et al.*, 2003; HIRANO *et al.*, 2003; HIRANO *et al.*, 2005).

3.4- Anestesia

A anestesia foi realizado por administração intraperitoneal com uma solução de Cloridrato de (S+) Cetamina, 80mg/kg (Ketamin®, Cristália, Itapira, São Paulo), com Cloridrato de Xilazina 2%, 10mg/kg (Rompum®, Bayer, São Paulo, São Paulo), e atropina, 0,05mg/kg (Halex Istar, São Paulo).

Com base em estudos anteriores, os animais manifestavam os primeiros efeitos das drogas dentro do segundo minuto do procedimento, atingindo o plano anestésico do estágio 3 plano 2 (BOOTH, 1982; KOHN, *et al.*, 1997) dentro de 5 minutos após aplicação da solução anestésica intraperitoneal. O plano anestésico foi avaliado pelo estímulo doloroso na cauda, ou pela tração da língua, e pela frequência respiratória (FR).

Todos os animais que não apresentaram esse comportamento foram excluídos do protocolo.

3.5- Procedimentos

Todos os animais foram submetidos a procedimentos em comum: cateterizações, estado de choque hemorrágico controlado (CHC), laparotomia, MP e período de reperfusão (PR).

3.6- Cateterizações

Após obter o plano anestésico, realizou-se a tricotomia nas seguintes regiões: abdome anterior, cervical direita e femoral direita. Em seguida, o animal foi colocado em posição supina, sobre uma prancha de aquecimento externo elétrico, tendo os membros estendidos e fixados com fita adesiva. A temperatura corpórea foi mantida entre 37-38,5°C, sendo monitorizada por meio de probe retal.

Na região cervical direita, com técnica asséptica, realizou-se dissecação dos planos com localização e cateterização dos seguintes vasos: veia jugular direita com cateter PE 50 e artéria carótida direita com probe para temperatura central.

Após a introdução do probe na artéria carótida direita foi administrado suplemento de oxigênio (2 litros/minutos) por uma campânula de plástico transparente, por meio da qual foi possível avaliar o plano anestésico com a observação de qualquer movimento do segmento cefálico com estímulo doloroso local e do padrão dos movimentos respiratórios.

Na região femoral esquerda, com técnica asséptica, foi dissecada e cateterizada a artéria femoral com cateter 24G $\frac{3}{4}$ (0,7 x 19 mm). O cateter foi fixado na pele com fio de algodão 4-0 para se evitar o deslocamento durante o experimento.

3.7- Grupos de estudos

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, conforme a solução de reanimação utilizada:

Grupo Solução Ringer com Lactato (GRL): foi utilizado solução de Ringer com lactato aquecida (39-40°C) (RLaq) e sangue total

Grupo Solução Fisiológica (GSF): foi utilizado solução fisiológica aquecida (39-40°C) (SFAQ) e sangue total.

Grupo Solução Hipertônica (GSH): foi utilizado solução salina hipertônica 7,5% aquecida (39-40°C) (SHAQ).

3.8- Choque hemorrágico controlado

A volemia estimada do rato no presente estudo foi de 5,4 ml/100g de peso (BIVIN *et al.*, 1979).

A instalação do CHC seguiu o modelo de HIRANO *et al.*, (2003): por intermédio da artéria femoral direita foram realizadas retiradas de sangue em intervalos de dois minutos para o estabelecimento do CHC. A quantidade de sangue de cada retirada inicialmente correspondeu a 5% da volemia total estimada do animal, até atingir a pressão arterial média PAM de 60 mmHg (PAM60), ponto a partir do qual se passou para 2,5% da volemia total para cada retirada, até obter PAM de 40 mmHg (PAM40).

A PAM foi monitorizada ininterruptamente através do cateter instalado na artéria femoral direita.

3.9- Reanimação volêmica no final da fase do CHC

Pela veia jugular direita foram realizadas: reposições volêmicas com a solução conforme o grupo estudado e sangue total e mensuração da PVC. A reanimação volêmica procedeu-se da seguinte forma:

GRL: foi reposta a quantidade de 5% da volemia estimada de RLaq, em “*bolus*”, por uma seqüência de três vezes, sendo a seguinte de sangue total na mesma quantidade. Efetuou-se esta seqüência até se atingir PAM de 80 mmHg (PAM80).

GSF: foi reposta a quantidade de 5% da volemia estimada com SFAQ, em “*bolus*”, por uma seqüência de três vezes, sendo a seguinte de sangue total na mesma quantidade. Efetuou-se esta seqüência até se atingir PAM80.

GSH: foi reposta a quantidade de 4ml/kg de SHaq, em “*bolus*”. Se esta reanimação não fosse suficiente para atingir PAM80, utilizava-se o RLaq e sangue total no modelo idêntico ao do GRL.

3.10- Débito cardíaco, índice cardíaco, índice de resistência vascular sistêmica

A mensuração do débito cardíaco (DC) foi realizada pela administração de 100 microlitros de solução salina pela veia jugular direita por método de termodiluição.

Como cada animal possui um peso e altura, calculou-se o Índice Cardíaco (IC) através dos valores do DC e superfície corpórea (SC).

$$DC \text{ (L/min)} = \text{volume sistólico/tempo}$$

$$SC \text{ (m}^2\text{)} = (\text{peso}^{0,425} \times \text{altura}^{0,725} \times 71,84)/10.000$$

$$IC = DC \text{ (mL/min)}/SC \text{ (dm}^2\text{)}$$

Com os valores da PAM, pressão arterial diastólica (PAD) e IC calculou-se o Índice de Resistência Vascular Sistêmica (IRVS).

$$IRVS = (PAM - PAD)/IC \times 80 \text{ (dina/s/cm}^2\text{)}$$

3.11- LAPAROTOMIA E MANOBRA DE PRINGLE

Na região anterior do abdome foi realizada uma incisão mediana com lâmina de bisturi nº 15 e abertura da parede abdominal com tesoura de Íris curva.

Na cavidade abdominal localizou-se o ligamento hepatoduodenal, que contém a tríade portal (FIGURA 1A), que consiste na veia porta, artéria hepática e ducto biliar.

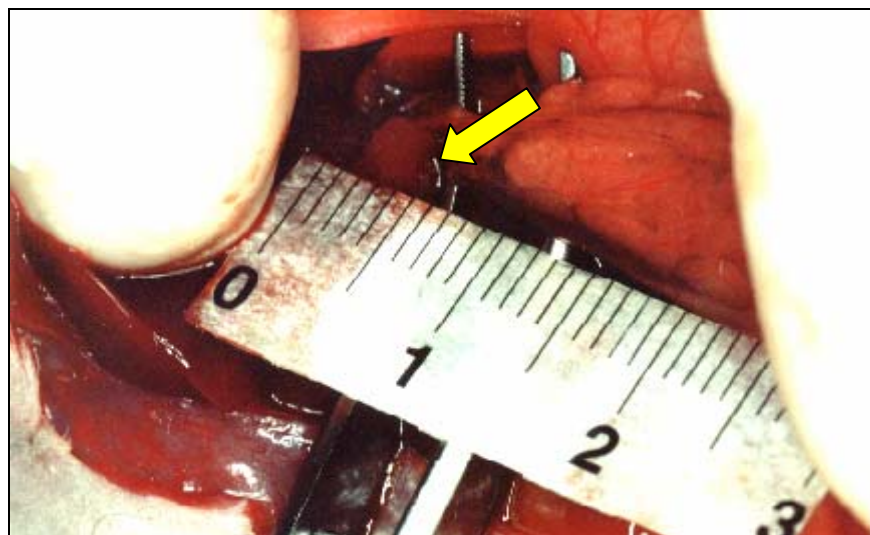


Figura 1A- Seta mostra a veia porta no ligamento hepatoduodenal

No ligamento realizou-se a MP, que corresponde ao pinçamento do mesmo, com “microclip” vascular hemostático atraumático delicado, por um período contínuo de 15 minutos (FIGURA1B).

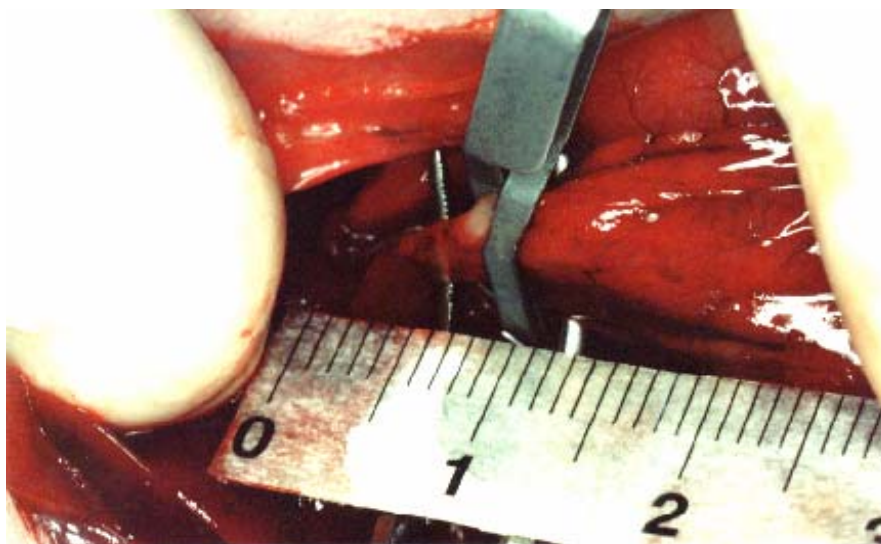


Figura 1B- Realização da Manobra de Pringle (pinçamento do pedículo hepático com “microclip” vascular).

Durante a MP, para se evitar a perda de calor e de líquidos por evaporação, utilizou-se uma cobertura de plástico estéril transparente. Após o período de isquemia hepática, foi realizado PR de até 120 minutos (PR120).

A MP promoveu progressivamente queda da PAM devido à estagnação de uma parte do volume sanguíneo circulante efetivo no leito esplâncnico, e, com o objetivo de se manter uma PAM maior de 40 mmHg, a reanimação volêmica obedeceu à seguinte norma:

GRL: utilizou-se RLaq e sangue total, com proporções iguais, na reanimação da fase do CHC.

GSF: utilizou-se SFAQ e sangue total, com proporções iguais, na reanimação da fase do CHC.

GSH: utilizou-se o mesmo esquema do GRL.

Durante o PR, para manutenção da PAM em torno de 80 mmHg, utilizou-se as mesmas reanimações que durante a MP.

3.12- Monitorização, controles e amostras

Em cada fase do experimento, em todos os grupos, foram monitorizadas as seguintes variáveis utilizando-se o polígrafo Mingograf 807 (Siemens-Elema, Alemanha): PAM, FC, eletrocardiograma (ECG) e temperatura retal (TR).

As amostras de sangue para gasometria, dosagem do lactato e dosagem de eletrólitos foram obtidas por cateterização da artéria carótida direita.

Os controles das variáveis e as coletas das amostras foram realizadas nos seguintes períodos: início do estudo; final do período de CHC; final da MP; na período de reperfusão (PR60) e PR120.

Nos animais que não sobreviveram até o RP120, entretanto ultrapassaram o RP60, os controles e amostras foram imediatamente coletados (FIGURA 2).

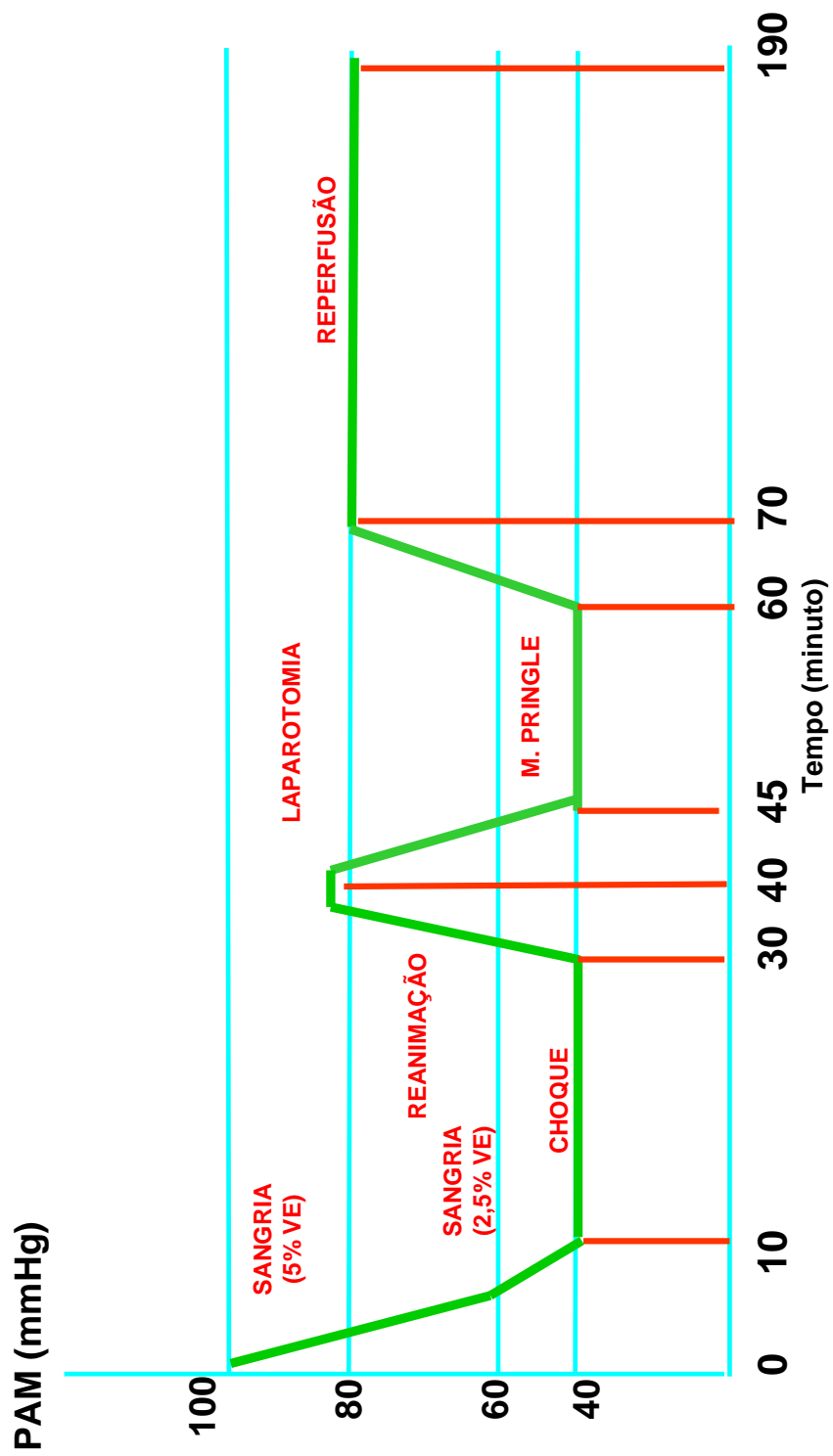


Figura 2: Diagrama representativo do protocolo experimental

Para cada retirada de amostras de sangue, sem o intuito de estabelecer um estado de choque, foi repostado RLaq pela veia jugular direita na dose de três vezes o volume retirado (HIRANO et al., 2003).

3.13- Dosagem do lactato sangüíneo

O lactato foi determinado pela utilização de teste BM-Lactate® (Roche), que consiste em tiras testes para determinação quantitativa do lactato utilizando o fotômetro de reflexão, pela reação colorimétrica do mediador lactato-oxidase.

3.14- Determinação do equilíbrio ácido-básico, eletrólitos, hematócrito e hemoglobina

As determinações sangüíneas do pH, RB, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, potássio (K), sódio (Na), hematócrito (Hto) e hemoglobina (Hb) foram realizadas no aparelho de gasometria da Instrumental Laboratory.

3.15- Eutanásia dos animais

Todos os animais que alcançaram o final do PR120 foram sacrificados por exsangüinação pela artéria femoral direita.

3.16- Retirada dos órgãos

A retirada dos órgãos obedeceu as seguintes etapas:

- a) A parede anterior do tórax foi removida por intermédio de secção cirúrgica das costelas, bilateralmente, na porção lateral e na junção esternoclavicular.

- b) Foram ocluídas a veia cava inferior e a aorta descendente logo acima do diafragma. Realizou-se uma punção com cateter com plástico sobre agulha nº 16 no ventrículo direito e uma incisão no ventrículo esquerdo. Através da punção injetou-se, sob efeito da gravidade, de uma altura de 2 metros, a solução de formol, o qual percorria os vasos da pequena circulação, notando-se nitidamente a limpeza do leito vascular pulmonar, com saída do excesso de líquido pela cardiomiectomia no ventrículo esquerdo. Em seguida, o coração e os pulmões foram retirados em monoblocos, sendo colocados em formalina à 10%.
- c) Mantendo a aorta ocluída e a veia cava inferior liberada, foi introduzido a solução de formol pela artéria femoral direita, realizando-se a limpeza do leito vascular dos órgãos abdominais.
- d) Foram retirados e fixados em formalina os seguintes órgãos abdominais: baço, rim direito, supra-renal esquerda, lobo hepático direito, pâncreas, segmento do íleo terminal, segmento do sigmóide, olho esquerdo, testículo direito e o cérebro.
- e) No rim direito, após a fixação em formalina à 10%, a metade da porção do pólo superior foi enviada para embebição em parafina, da qual foram realizados cortes de cinco micra de espessura e corados através da técnica de Hematoxilina e Eosina (HE) para contagem dos neutrófilos. Por questões do método, foi escolhido o rim direito para o estudo. O rim esquerdo não foi retirado do animal.

3.17- Contagem de neutrófilos no rim à microscopia óptica

Foi realizada contagem de PMN no rim na região do córtex, no interstício. Foram examinados dez campos, utilizando objetiva 10 e ocular de 10, determinando o número médio/campo.

Os campos examinados obedeceram à seguinte regra: examinava-se um campo e saltavam-se dois campos correspondentes iguais para que se examinasse o próximo, seqüencialmente (FIGURA 3).

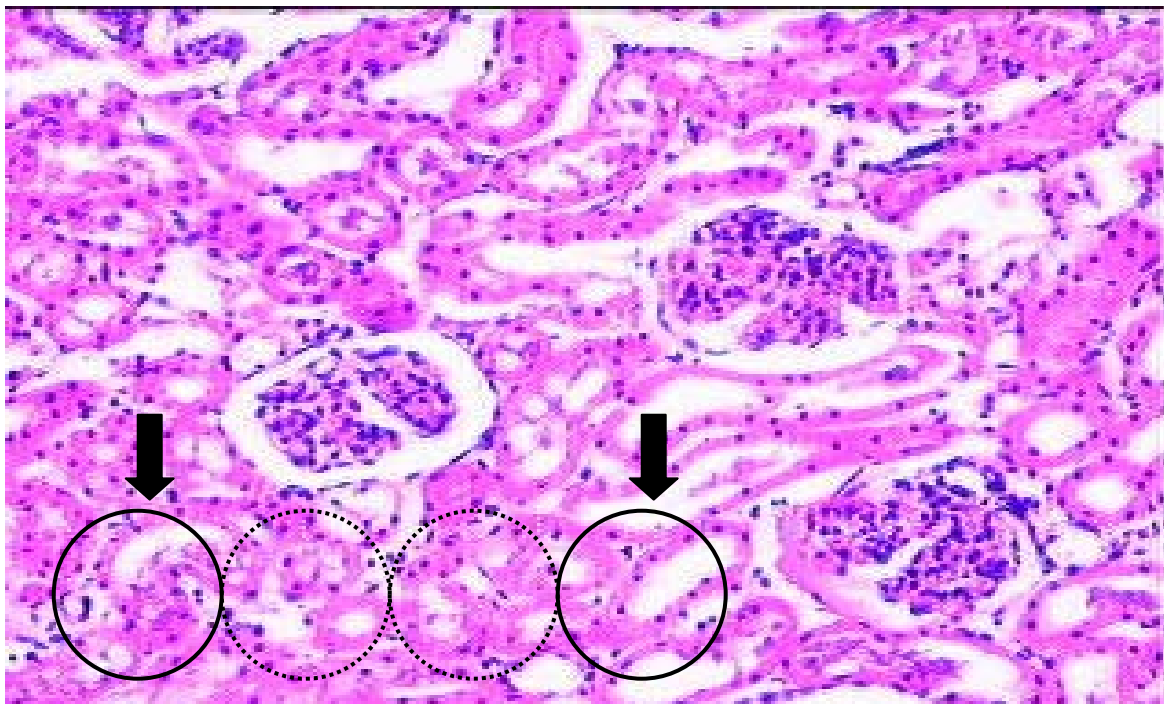


Figura 3- As setas indicam os campos examinados, conforme a seqüência demonstrada.
Fotomicrografia do rim direito. HE 100x

3.18- Método estatístico

Para descrever o perfil da amostra segundo as diversas variáveis em estudo, foram feitas estatísticas descritivas (com medidas de posição e dispersão) das variáveis contínuas.

Para comparar as medidas obtidas em um único momento entre os três grupos foi utilizada a Análise de Variância Simples (*One-way ANOVA*) e o teste de Tukey para comparação múltipla. Devido à dispersão e assimetria dos valores de algumas variáveis, foi utilizada a transformação logarítmica. Para comparar as medidas entre os três grupos e entre os três tempos foi utilizada a Análise de Variância para medidas repetidas

(*Repeated Measures* ANOVA). Para comparar as medidas entre os grupos foi utilizado o teste de Tukey para comparação múltipla, e para comparar as medidas entre os tempos foi utilizado o teste de perfil por contrastes. Na correlação entre as variáveis foi usado o coeficiente de correlação de Pearson.

As curvas de sobrevida foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e usados os testes de Breslow e *log-rank*. A relação entre a sobrevida e as demais variáveis foi estudada através da Análise de Regressão de Cox, com modelo de riscos proporcionais. Para a contagem de neutrófilos foi usada a Análise de Regressão Linear.

O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, $p < 0,05$.



4- RESULTADOS

4.1- Animal de experimentação

A distribuição foi feita de modo aleatório para assegurar que cada animal tivesse uma probabilidade igual de ser colocado em cada um dos grupos de estudo.

O valor médio dos pesos dos animais está demonstrado na tabela 1:

Tabela 1- Valores médios dos pesos dos animais por grupo

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
Peso (gramas)	235,3 ± 12,18	240 ± 16,97	216 ± 42,96	0,333

4.2- Análise inicial das variáveis

Conforme o protocolo, as médias das variáveis metabólicas, hemodinâmicas e eletrolíticas avaliadas no início do estudo foram (TABELA 2):

Tabela 2 – Valores médios iniciais das variáveis

	GSF	GRL	GSH	P*
PAM	128,5 ± 22,92	137,8 ± 12,42	117,3 ± 19,24	0,198
FC	289,7 ± 31,63	281,0 ± 44,50	335,0 ± 44,61	0,078
IC	27,8 ± 4,4	25,0 ± 6,2	26,4 ± 14,0	0,871
IRVS	4,65 ± 0,75	5,79 ± 1,43	6,00 ± 3,79	0,544
pH	7,30 ± 0,05	7,30 ± 0,04	7,31 ± 0,06	0,925
HCO ₃ ⁻	25,52 ± 0,91	26,73 ± 1,38	26,12 ± 1,83	0,364
RB	-1,08 ± 1,42	0,02 ± 1,90	-0,05 ± 1,71	0,468
Na ⁺	137,2 ± 2,32	135,3 ± 4,23	134,7 ± 1,86	0,344
K ⁺	5,68 ± 0,54	5,12 ± 0,52	5,57 ± 1,05	0,408
Hto	42,83 ± 2,48	43,50 ± 2,17	42,67 ± 3,08	0,844
Lactato	1,10 ± 0,25	1,22 ± 0,44	1,48 ± 0,60	0,358

*ANOVA p < 0,05

Não houve diferença estatística entre os valores médios iniciais das variáveis.

4.3- Estabelecimento do CHC

O tempo médio utilizado para estabelecer o CHC para atingir valores de PAM40, em cada grupo, variou (TABELA 3):

Tabela 3 – Tempo médio para instalação do CHC

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
Tempo (minutos)	18,33 ± 3,39	18,17 ± 2,23	17,50 ± 5,50	0,928

*ANOVA $p < 0,05$

Não houve diferença estatística no tempo médio entre os grupos.

O volume médio de sangue retirado em mililitros (ml) para cada 100 gramas (100 g) do peso de cada animal para atingir a PAM de 40 mmHg para o estabelecimento do choque hemorrágico controlado foi (TABELA 4):

Tabela 4 – Volume médio retirado para instalação do CHC

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
Volume (ml)/100 g	2,71 ± 0,37	2,54 ± 0,20	2,30 ± 0,46	0,174

*ANOVA $p < 0,05$

O volume médio retirado não apresentou diferença estatística entre os grupos ($p = 0,174$).

4.4- Análise das variáveis no final do CHC

A Tabela 5 demonstra a análise das variáveis após período de 20' de CHC.

Tabela 5 – Valores médios das variáveis no final do CHC

	GSF	GRL	GSH	P*
FC	296,7 ± 60,88	262,0 ± 64,93	305,0 ± 32,71	0,377
IC	12,41 ± 3,78	9,61 ± 2,32	11,38 ± 6,56	0,574
IRVS	3,60 ± 1,42	4,13 ± 0,92	3,70 ± 1,52	0,748
pH	7,28 ± 0,05	7,32 ± 0,04	7,27 ± 0,06	0,228
HCO ₃ ⁻	15,93 ± 3,82	15,47 ± 2,15	15,95 ± 2,20	0,947
RB	- 8,93 ± 3,63	- 8,62 ± 1,18	- 7,42 ± 3,54	0,663
Na ⁺	130,5 ± 2,74	128,3 ± 3,72	132,00 ± 7,72	0,480
K ⁺	7,98 ± 0,90	7,62 ± 1,73	8,02 ± 1,46	0,864
Hto	29,83 ± 2,48	31,33 ± 1,03	31,17 ± 4,26	0,627
Lactato	5,52 ± 1,61	6,05 ± 1,45	4,40 ± 1,49	0,192

*ANOVA p < 0,05

Os valores médios das variáveis nesta análise não demonstraram diferença estatística entre os grupos.

4.5- Reanimação volêmica

Após o período de CHC realizou-se a reanimação volêmica com a solução específica de cada grupo com o objetivo de se atingir a PAM = 80 mmHg e, após permanecer por 5 minutos neste nível, foi seguido de laparotomia.

Para análise homogênea do volume médio padronizou-se em ml para cada 100 g de peso de cada animal, sendo os valores encontrados (TABELA 6):

Tabela 6 – Volume médio utilizado na reanimação pós-CHC

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
Volume (mililitros)/100 gramas	0,98 ± 0,18	1,19 ± 0,22	0,75 ± 0,35	0,0361

*ANOVA $p < 0,05$

O GSF não apresentou diferença estatística com os demais grupos. Entretanto houve diferença estatística entre os grupos GRL e GSH conforme análise estatística: $p=0,0361$, GSF (A, B); GRL (A); GSH (B).

4.6- Manobra de Pringle

Durante a MP, para manutenção da $PAM \geq 40$ mmHg, foi necessária a complementação de volume, sendo utilizadas a solução de RLaq e sangue total. Para análise homogênea padronizou-se em ml para cada 100 g de peso de cada animal, sendo os valores encontrados (TABELA 7):

Tabela 7 – Volume médio utilizado durante MP

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
Volume (mililitros)/100 gramas	3,76 ± 1,17	3,12 ± 0,94	2,93 ± 0,65	0,309

*ANOVA $p < 0,05$

Não houve diferença estatística entre os grupos em relação ao volume utilizado de cristalóides durante a MP.

4.7- Análise das variáveis no final do período da MP

A Tabela 8 demonstra os valores médios das variáveis após os 15' de MP.

Tabela 8 – Valores médios das variáveis no final da MP

	GSF	GRL	GSH	P*
FC	270,0 ± 31,62	299,0 ± 49,55	275,0 ± 25,88	0,375
IC	16,00 ± 4,13	16,55 ± 7,62	22,88 ± 10,77	0,283
IRVS	2,38 ± 0,58	2,82 ± 1,05	1,97 ± 1,16	0,376
pH	7,21 ± 0,03	7,30 ± 0,04	7,25 ± 0,06	0,012
HCO ₃ ⁻	15,02 ± 2,73	17,37 ± 1,66	15,68 ± 1,79	0,174
RB	- 11,3 ± 2,13	- 7,80 ± 1,05	- 9,85 ± 1,55	0,007
Na ⁺	137,2 ± 1,47	132,8 ± 3,54	140,50 ± 3,39	0,002
K ⁺	7,15 ± 0,66	6,90 ± 0,89	7,72 ± 1,64	0,463
Hto	25,5 ± 3,27	24,83 ± 3,97	24,5 ± 6,60	0,936
Lactato	4,18 ± 1,15	6,22 ± 1,06	5,95 ± 2,59	0,123

Os valores médios do pH e da RB do GSF diferenciaram-se estatisticamente dos demais grupos.

O valor médio de Na do GRL diferenciou-se estatisticamente dos demais grupos.

4.8- Análise das variáveis no PR60

Conforme o protocolo, as médias das variáveis metabólicas e eletrolíticas avaliadas foram (TABELA 9):

Tabela 9 – Valores médios das variáveis no PR60

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
pH	7,18±0,03	7,23±0,03	7,08±0,09	0,001
HCO₃⁻	13,82±5,80	17,82±1,08	17,23±2,56	0,166
RB	-12,82±4,14	-8,6±1,26	-11,83±3,21	0,079
Na⁺	142,2 ± 5,17	135,8 ± 10,55	141,50 ± 4,76	0,282
K⁺	7,68 ± 1,74	8,08 ± 1,64	8,33 ± 1,64	0,797
Hto	39,33 ± 2,58	41,80 ± 3,03	30,50 ± 5,17	0,000
Lactato	3,16 ± 0,85	3,93 ± 1,39	6,37 ± 2,53	0,015

Houve diferença estatística entre os grupos nas variáveis pH e Hto.

As variáveis hemodinâmicas não foram calculadas, pois que nesta fase considerou-se a curva de sobrevida.

4.9- Volume médio total utilizado em cada grupo

A Tabela 10 demonstra o volume médio utilizado desde a fase da reanimação do CHC até o PR.

Tabela 10 – Volume médio utilizado em cada grupo

Grupo	GSF	GRL	GSH	P*
Volume (mililitros)/100 gramas	7,47 ± 2,18	7,97 ± 1,62	7,60 ± 2,99	0,929

*ANOVA p < 0,05

4.10- Gráficos de evolução das variáveis

No eixo do tempo os pontos 0, 1 e 2 correspondem ao início do estudo, final do CHC e PR60, respectivamente (GRÁFICOS 1 a 10)..

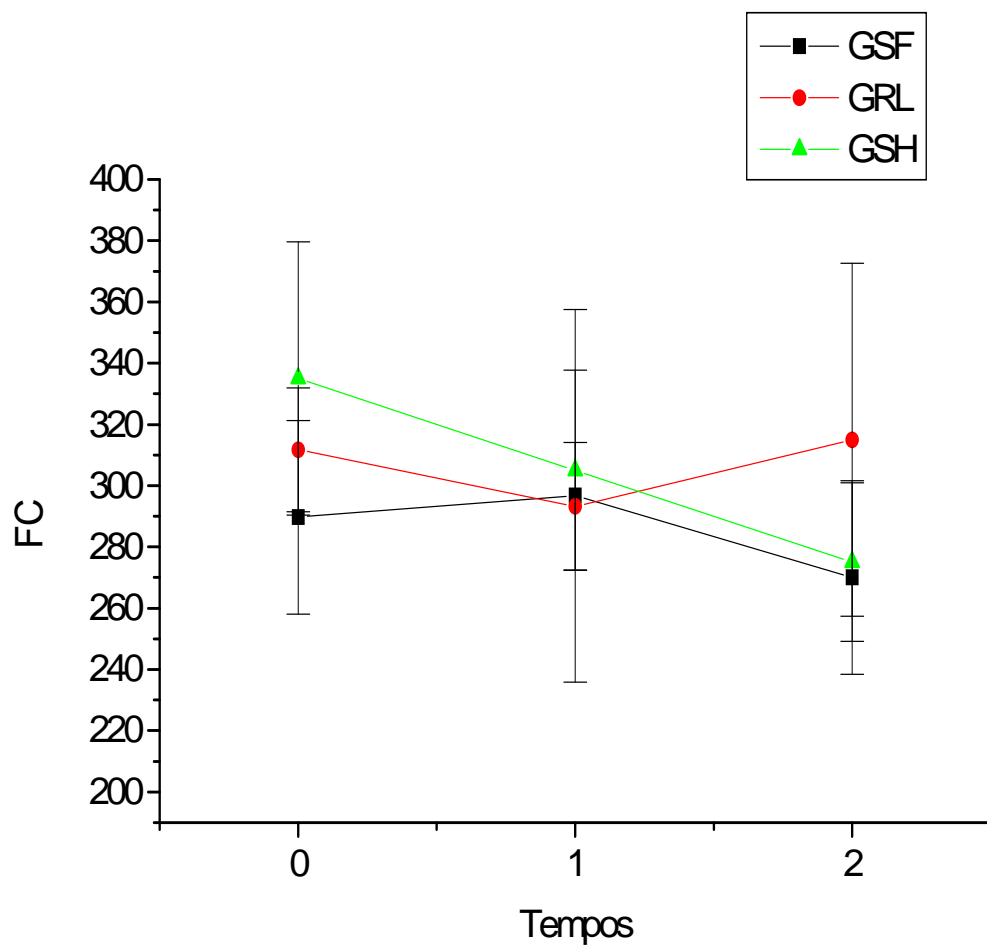


Gráfico 1 – Evolução da frequência cardíaca

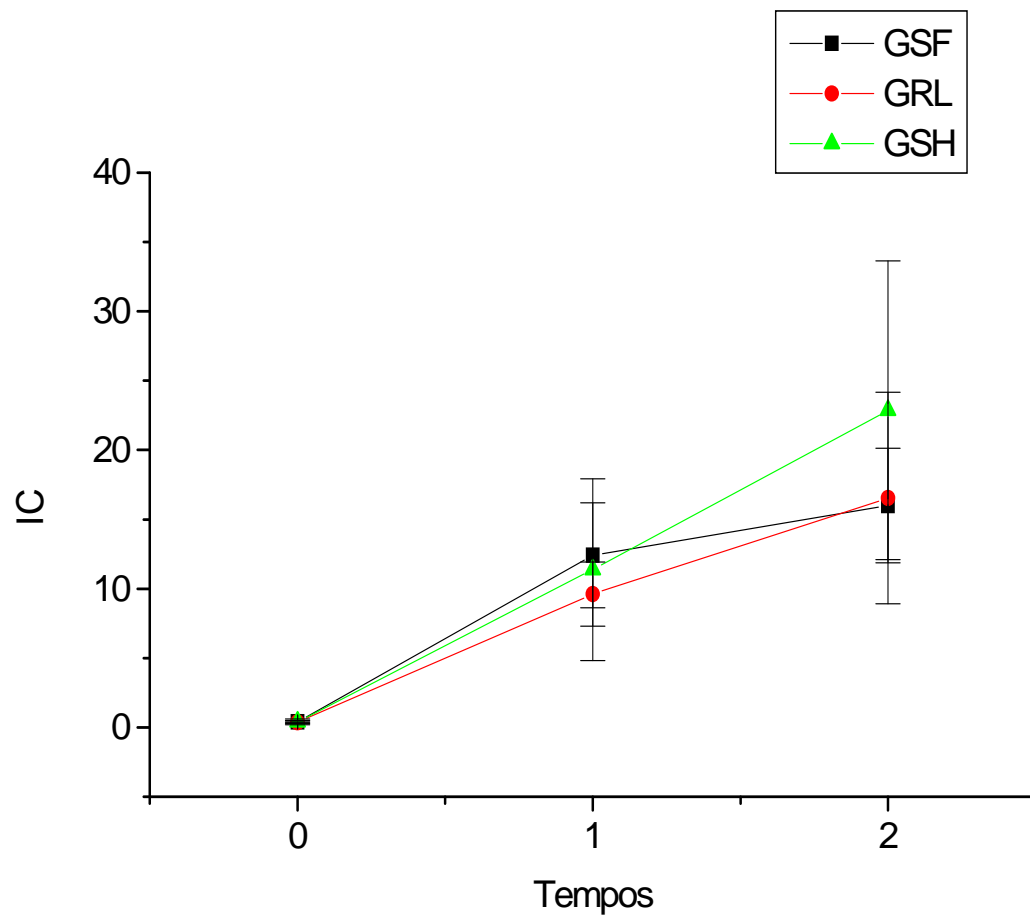


Gráfico 2 – Evolução do índice cardíaco

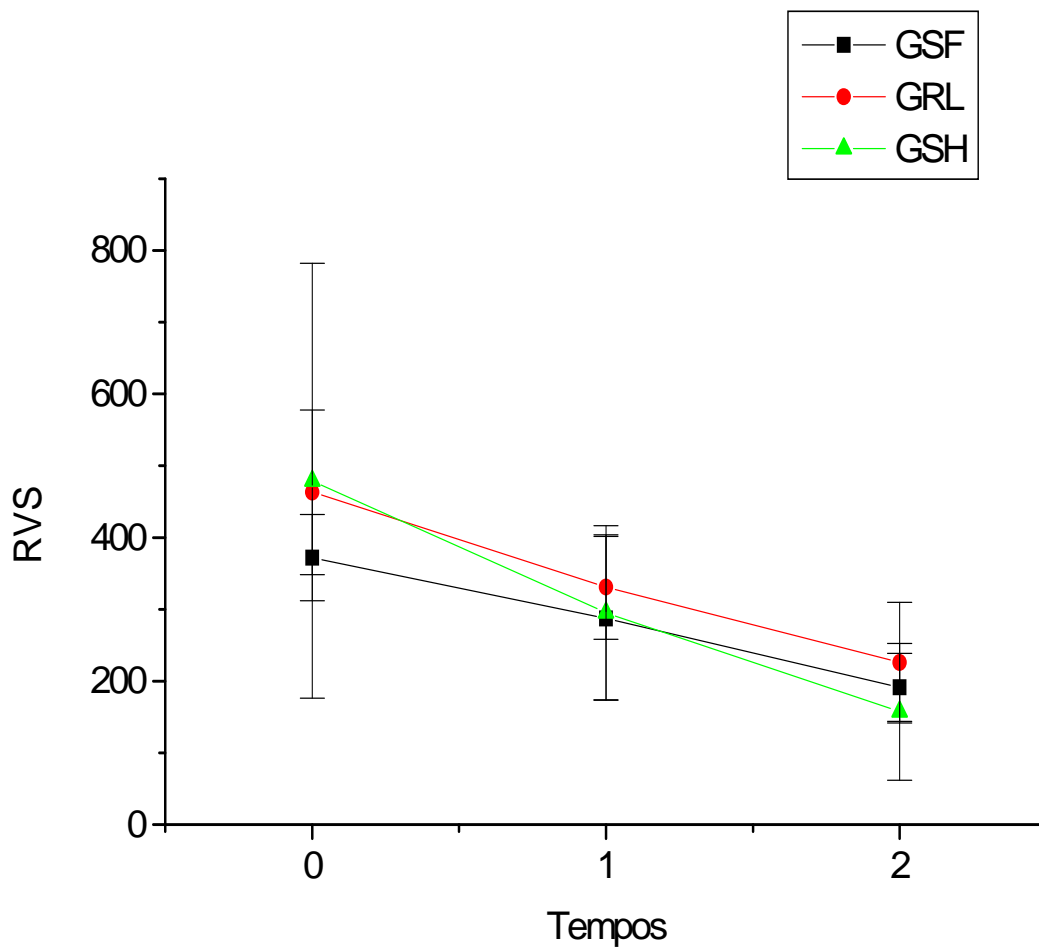


Gráfico 3 – Evolução da resistência vascular sistêmica

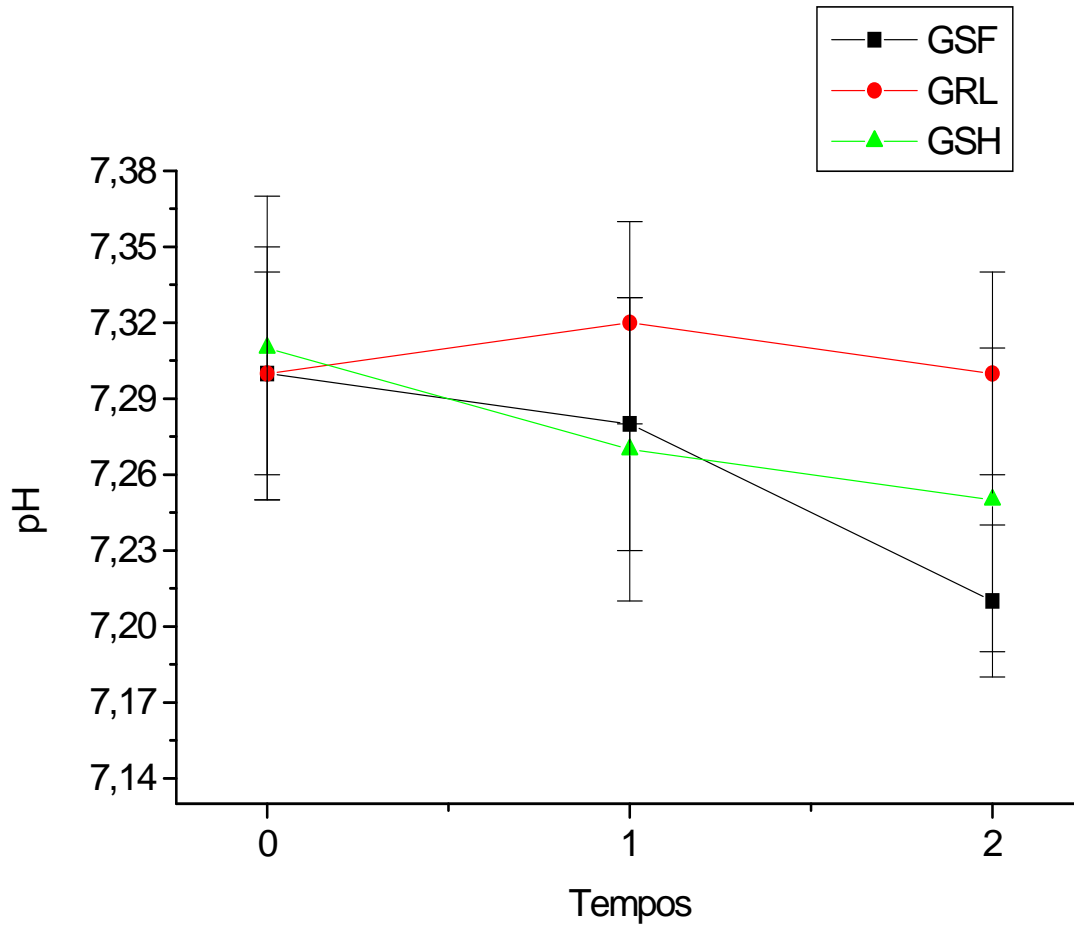


Gráfico 4 – Evolução do pH

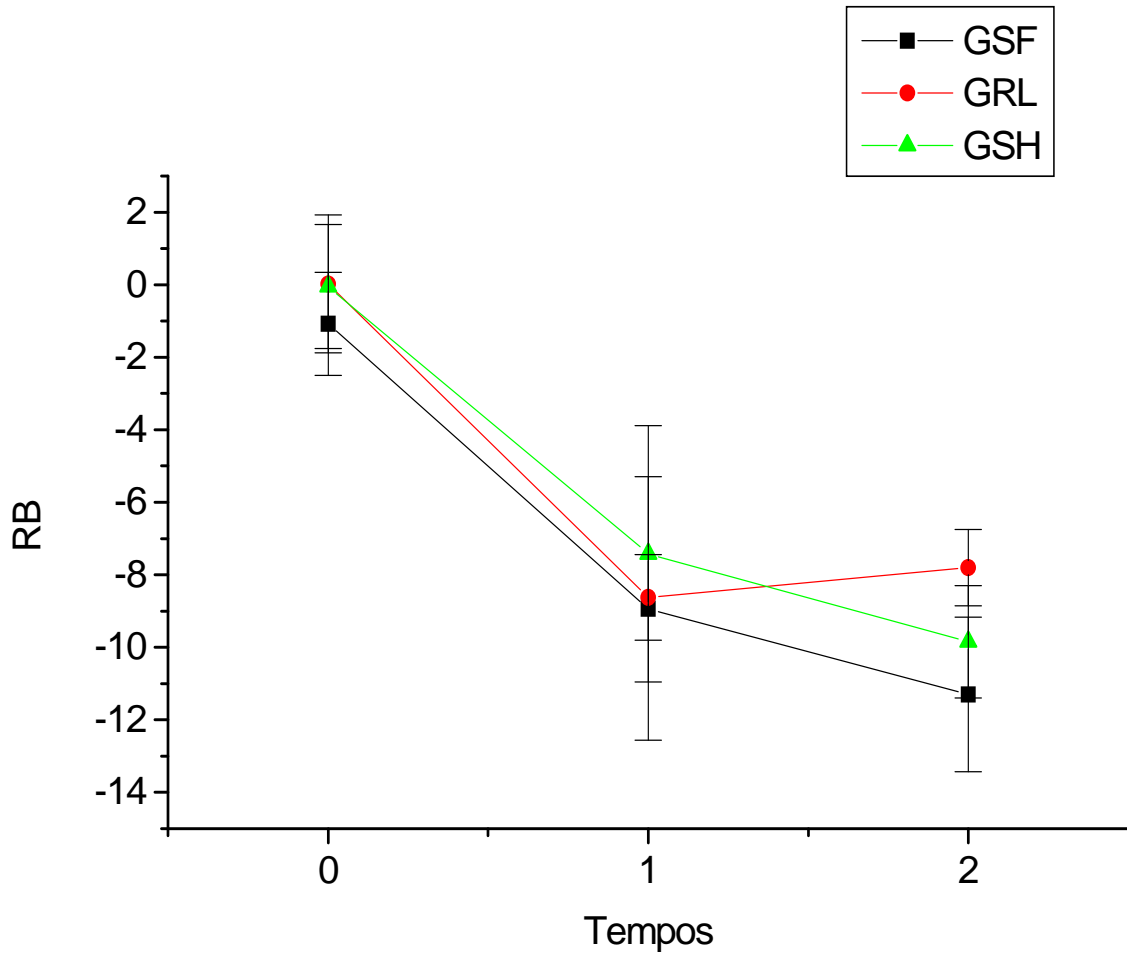


Gráfico 5 – Evolução da reserva de base

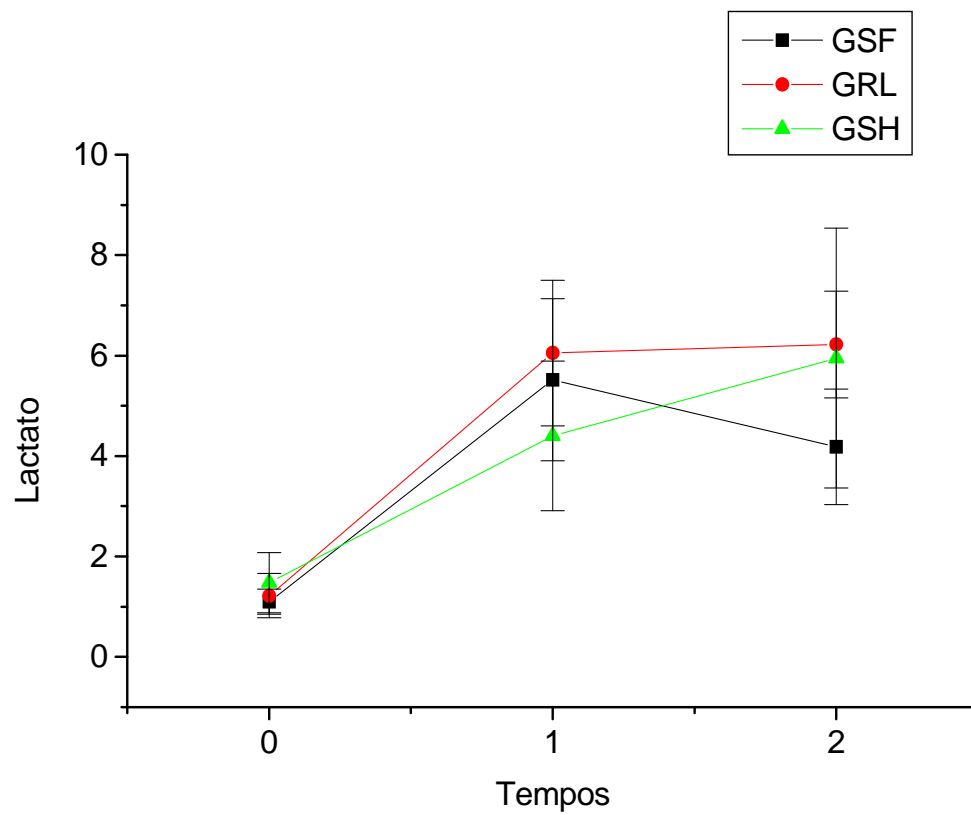


Gráfico 6 – Evolução do lactato

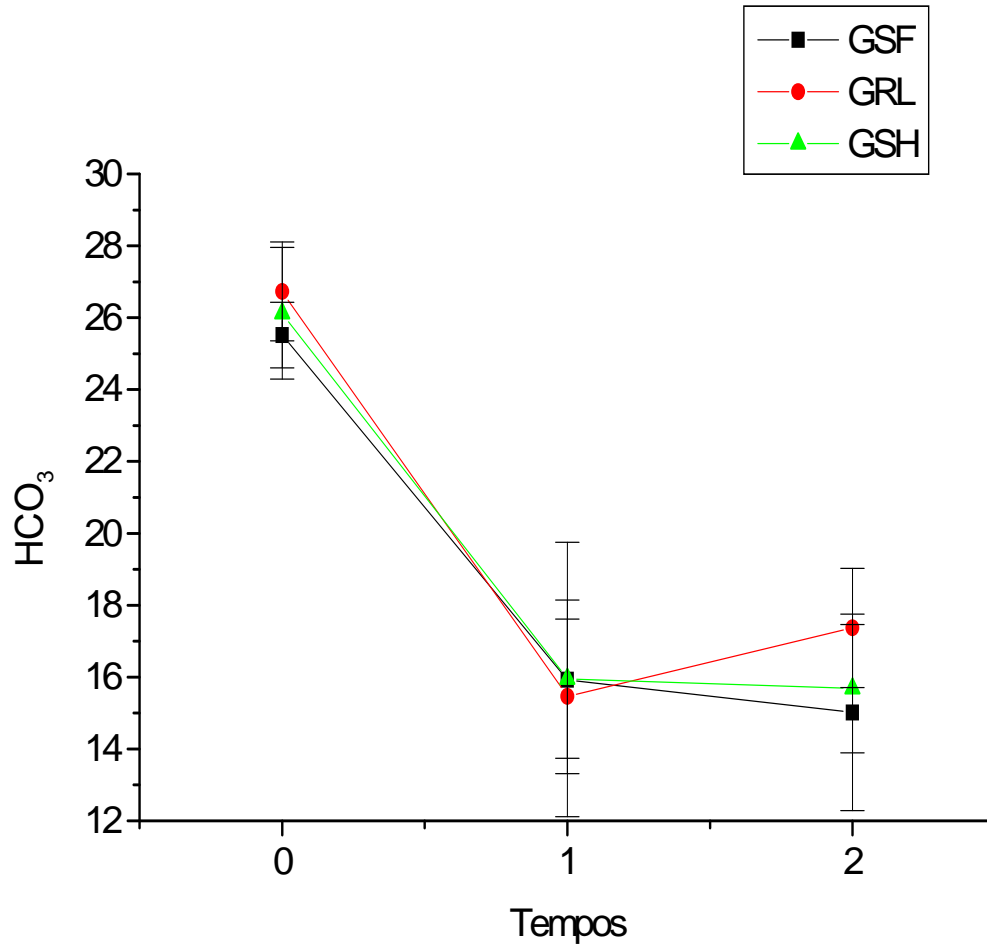


Gráfico 7 – Evolução do bicarbonato

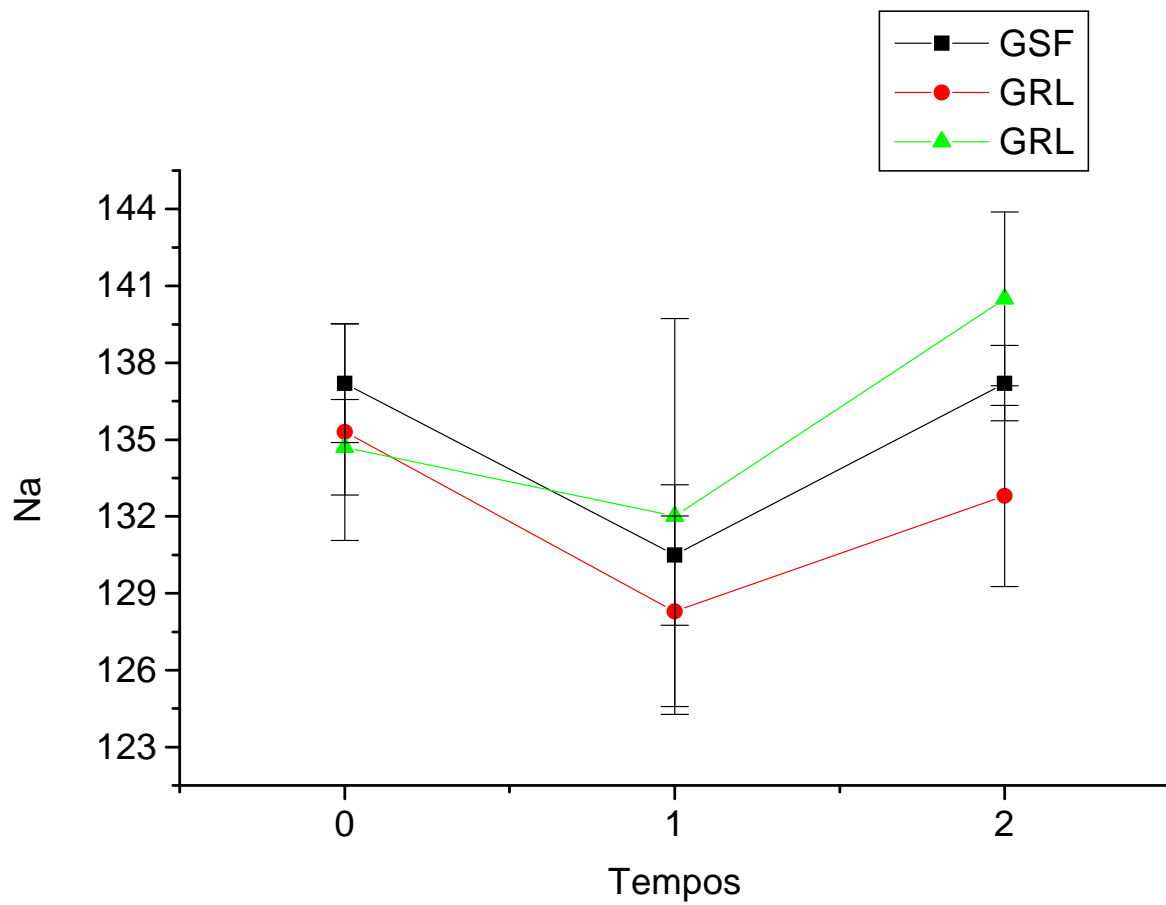


Gráfico 8 – Evolução do sódio (Na)

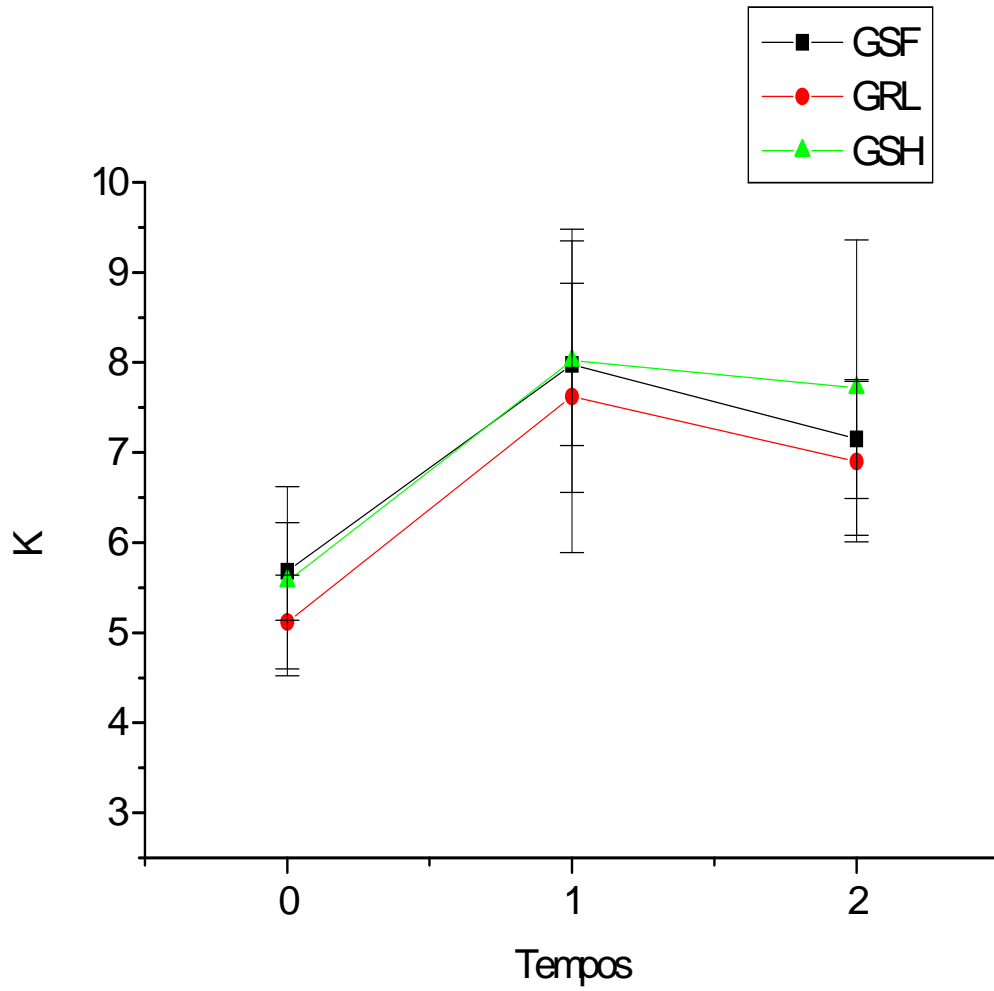


Gráfico 9 – Evolução do potássio (K)

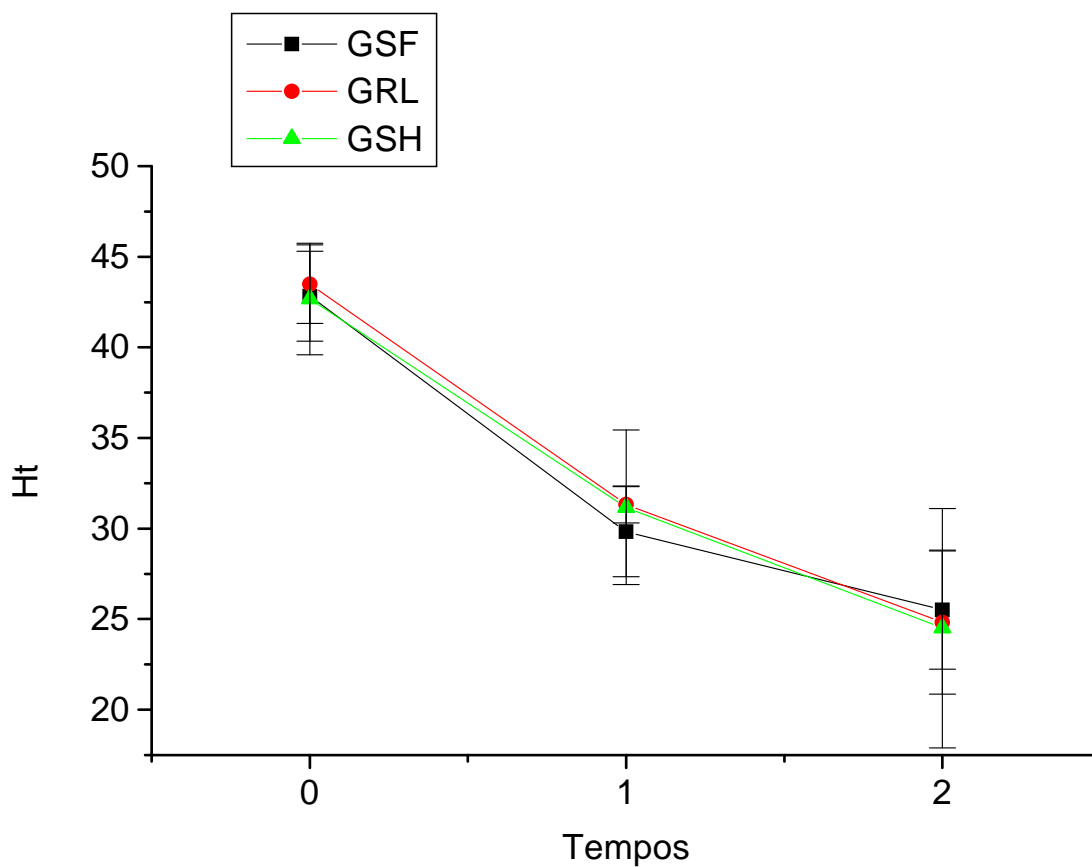


Gráfico 10 – Evolução do hematócrito (Hto)

4.11- Sobrevida

A Tabela 11 mostra que a sobrevida não foi diferente estatisticamente entre os três grupos estudados, $p=0,2002$ (teste de Breslow) e $p=0,2435$ (teste de *log-rank*).

Tabela 11 – Tempo médio de sobrevida

Grupo	GSF	GRL	GSH
Sobrevida em minutos	79,0 ± 12	97,0 ± 11	67,00 ± 10

O gráfico 11 representa as curvas de sobrevida estimadas pelo método de Kaplan-Meier

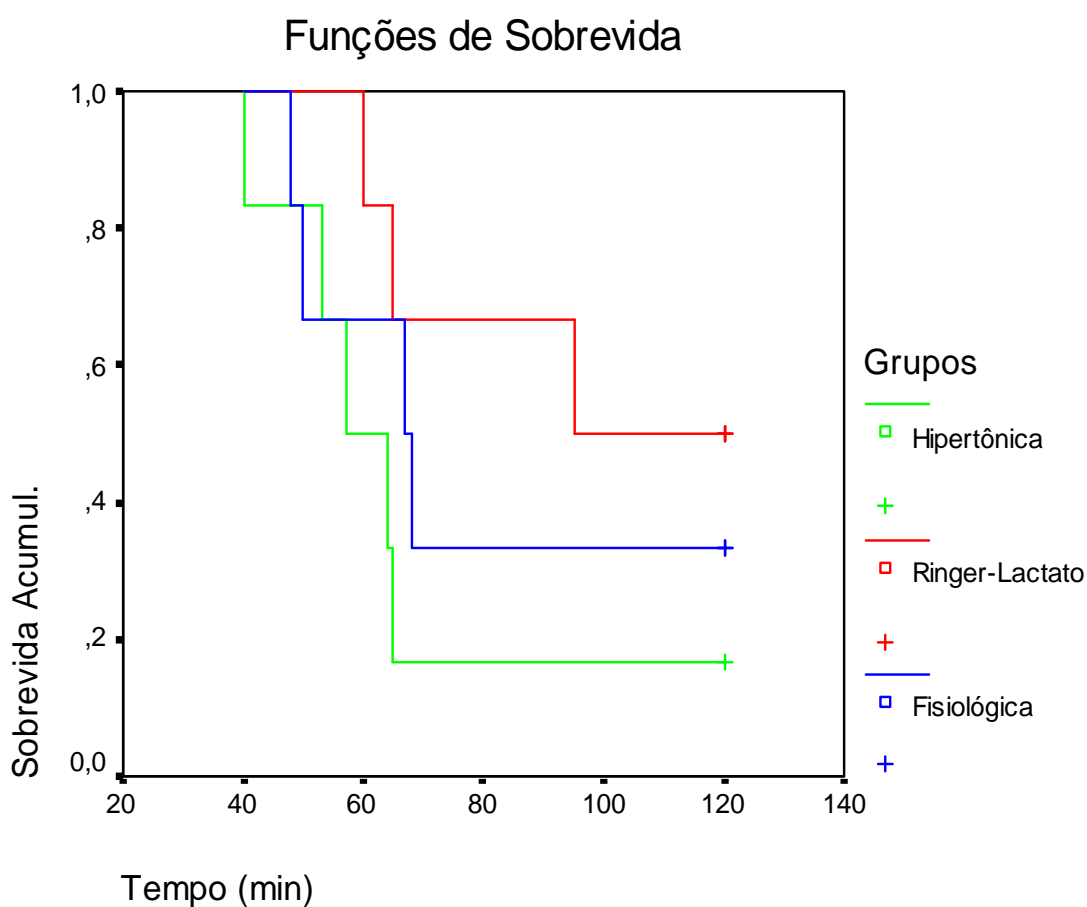


Gráfico 11 – Curva de sobrevida

Sobrevidas entre Grupos (estimação por Kaplan-Meier)

4.12- Seqüestro de neutrófilos no córtex renal do rato

A tabela 12 demonstra o valor médio de neutrófilos por campo de cada grupo estudado.

Tabela 12-Contagem de neutrófilos/campo no córtex renal do rato

Grupo	Média/campo	Desvio padrão	Média ajustada para tempo de sobrevivida
GSF	0,55	0,68	0,55
GRL	1,68	0,53	1,62
GSH	1,33	0,43	1,39
P*	0,0166	-	0,0128

*Anova.

O Grupo Solução Fisiológica diferiu estatisticamente dos demais grupos, apresentando o menor valor médio, mesmo ajustando-se com a sobrevivida ($p=0,0166$ e $0,0128$, respectivamente).

A Figura 4 , com aumento de 1000 vezes, observa-se no interstício a presença de NTF:

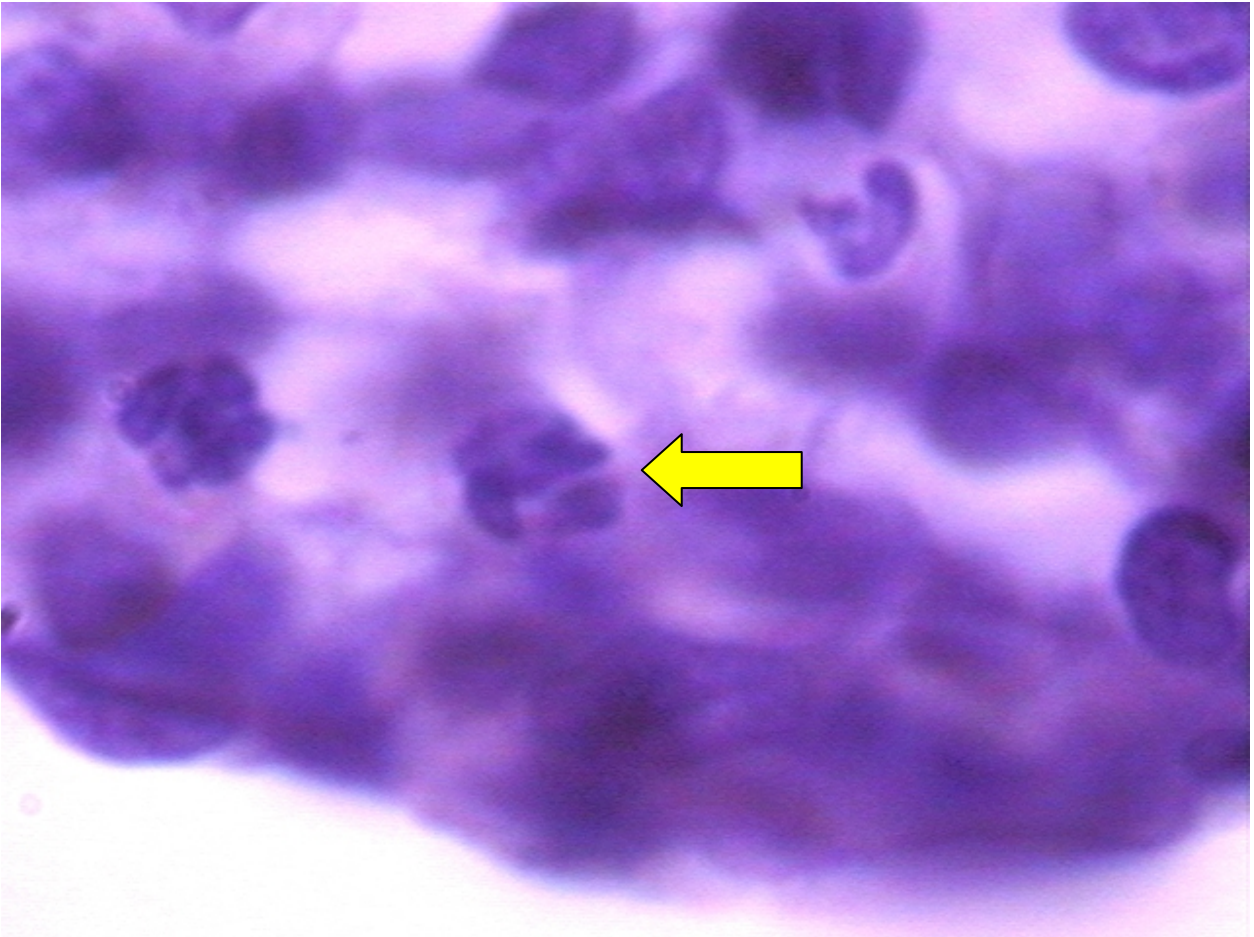


Figura 4- Demonstra a presença do NTF (seta) no interstício do córtex renal do rato . HE
1000x



5- DISCUSSÃO

No trauma, a principal causa de choque é a perda sangüínea, que pode estar localizada em uma ou mais regiões como no abdome, pelve, tórax ou extremidades. O corpo humano promove a redistribuição do volume sangüíneo frente à hipovolemia, sendo o coração e o cérebro que recebem proporcionalmente a maior contribuição, promovendo isquemia em outros órgãos como rim, intestino e musculo-esquelético, podendo contribuir na evolução, subseqüentemente, para disfunção de múltiplos órgãos (SCHLICHTIG *et al.*, 1993; MYTHEN e WEBB, 1994).

No atendimento inicial do tratamento do choque hemorrágico deve-se avaliar a volemia circulante e a eficácia da reanimação, e, para isto podem ser utilizados parâmetros hemodinâmicos e/ou metabólicos. Os sinais vitais auxiliam no diagnóstico do estado de choque; entretanto, podem estar normais devido aos mecanismos de compensação e de outros fatores (WILSON *et al.*, 2003). Pode ocorrer elevação da pressão arterial sistólica devido ao aumento da resistência dos pequenos vasos, sendo a PAM menos afetada por esse fenômeno (DAROVIC e VANRIPER, 1995; NICHOLS e O'ROURKE, 1990). O quadro clínico de hipovolemia, que se constitui do aumento da FC, lentificação do enchimento capilar, queda da temperatura corporal, descoloração da mucosa e pele, alteração do nível de consciência e redução débito urinário, pode não identificar precocemente a instalação do choque hemorrágico, e, portanto, retardar o início do seu tratamento.

A PAM, PVC e a utilização do cateter de Swan Ganz são técnicas invasivas para avaliação do estado de choque hemorrágico o que os tornam impraticáveis no atendimento de emergência. Há métodos não invasivos como, por exemplo: mensuração do DC por bioimpedância elétrica torácica, certos parâmetros metabólicos e o pH de intramucoso.

Portanto, o presente trabalho selecionou algumas variáveis metabólicas para caracterização da hipoperfusão tecidual, como a determinação do nível do lactato e o consumo da RB.

A análise dos valores médios iniciais das variáveis não demonstrou diferenças estatísticas, denotando que as condições fisiológicas dos animais eram semelhantes (TABELA 2).

O modelo de CHC, neste estudo, foi realizado com retiradas iniciais de 5% da volemia estimada, com intervalo de dois minutos entre cada sangria, até PAM60. A partir desse ponto, as retiradas modificaram-se para 2,5% da volemia estimada, até PAM40. Essa metodologia tem como objetivo simular uma lesão hemorrágica, visto que conforme progredi a perda volêmica há queda da PAM, ocorrendo diminuição do fluxo de sangramento pela lesão (HIRANO *et al.*, 2003). No estudo, o tempo médio e o volume médio retirado necessários para o estabelecimento do CHC entre os três grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativa (TABELA 3 e 4).

Nesse modelo como o nível da PAM é controlado, isto é, igual para todos os animais (PAM = 40 mmHg). Portanto, esta variável não faz parte desta análise.

Com base na literatura (BACELAR *et al.*, 1999), foi utilizada no presente trabalho cloridrato de xilazina que promove leve a moderada sedação, bradicardia, aumento da atividade vagal, salivação e, quando empregada de forma isolada possui baixa capacidade analgésica. O cloridrato de Cetamina promove uma anestesia dissociativa caracterizada por um quadro de sedação, imobilização e analgesia acentuada, fazendo o animal permanecer com os olhos abertos, com leve nistagmo, presença dos reflexos locais e com aumento da salivação. Para contrapor os efeitos colaterais da solução xilazina/cetamina foi acrescentada atropina, que produz diminuição do estímulo vagal e redução das secreções salivar e brônquica (FLECKNELL, 1996). No presente estudo, a FC não apresentou alterações entre os tempos experimentais em qualquer dos grupos, provavelmente em função das drogas utilizadas na anestesia (FLECKNELL, 1996; FISH, 1982).

Outro parâmetro hemodinâmico para avaliar a volemia é o DC, que é definido como o volume de sangue ejetado pelos ventrículos em 1 minuto, permitindo avaliar também a função cardíaca e a resistência vascular periférica.

Na prática clínica, o método de FICK pode ser utilizado para determinar o DC, cujo princípio baseia-se no fato de que a quantidade de uma substância liberada ou detectada por um órgão é resultado do produto do seu fluxo sanguíneo pela diferença artério-venosa da concentração dessa substância. Entretanto, tem pouca aplicabilidade prática devido a necessidade de mensurações seriadas do consumo de oxigênio, pO_2 arterial e venoso pulmonar (BERNE e LEVY, 1997). Neste estudo, utilizou-se o método da termodiluição para determinar o DC, que se baseia na equação de Stewart-Hamilton. Nessa avaliação, usa-se o frio para promover uma diferença térmica como variante da técnica de diluição do indicador. A temperatura é o indicador, e a variação média da temperatura, representa a concentração do indicador coletada distalmente (FERNANDES *et al.*, 1998). Este método pode ser utilizado em pacientes críticos na unidade de terapia intensiva. Entretanto o benefício de sua aplicação no setor de emergência é questionável pelos riscos de complicações (VENDER, 1998, BECKER, 1998), embora haja na literatura a proposta de se utilizar este parâmetro durante o atendimento inicial para avaliar a eficácia da reanimação volêmica (BARON e SCALEA, 1996). O DC varia com o peso e altura, e, portanto neste estudo, utilizou-se o índice cardíaco, que corresponde ao valor encontrado quando se divide o DC pela superfície corpórea.

O IC apresentou uma redução significativa de valores ao final do CHC nos três grupos, demonstrando a hipovolemia, conforme a literatura (NOVAK *et al.*, 1999). Após a MP, a redução em relação aos valores basais foi mantida, exceto no GSH. Embora não fosse estatisticamente distinto dos outros grupos, o valor se elevou novamente, aproximando-se do nível basal do grupo ($p < 0,05$), sugerindo uma tentativa de recuperação. Através do IC determinaram-se os valores do IRVS, que representa a resistência imposta pela circulação sistêmica à passagem do fluxo sanguíneo. O IRVS informa o estado vasomotor da circulação sistêmica; quando há vasoconstrição ocorre elevação do seu valor, ocorrendo o inverso quando há vasodilatação. Os resultados do IRVS mostraram uma redução significativa após MP nos três grupos, o que sugere distúrbios no controle

vasopressor em ratos submetidos ao choque e posteriormente à isquemia hepática, indicando fase descompensada da hipovolemia em instalação (BELLAMY *et al.*, 1984). Interessante é notar que, embora o índice cardíaco apontasse para melhora hemodinâmica nos animais que receberam solução salina hipertônica após CHC, o lactato permaneceu elevado.

Em relação aos valores médios dos parâmetros metabólicos, a interferência da anestesia pode ser identificada na queda do pH arterial no início do estudo, causada por depressão respiratória, como pode ser visto pelos valores médios de bicarbonato, reserva de base e lactato (TABELA 2). Os valores médios de PO₂ mantiveram-se acima de 150mmHg, pelo enriquecimento do ar respirado com oxigênio à 100% durante os tempos experimentais. Essa depressão do sistema respiratório é descrita em ratos anestesiados com a solução cetamina + xilazina nas doses necessárias para o plano anestésico-cirúrgico (FLECKNELL, 1996; FISH, 1982). Com a instalação do estado de choque hemorrágico, observou-se acidose metabólica mais acentuada no GSF, quando se avalia o pH, comparando seu valor inicial com o final desta fase do experimento (p=0,004).

O lactato e a RB são marcadores metabólicos séricos na avaliação do estado de choque e da eficácia da reanimação volêmica (BRODER e WEIL, 1964; DAVIS, 1994; MENDES *et al.*, 1997; HIRANO *et al.*, 2003; KVARSTEIN *et al.*, 2003). O nível do lactato foi determinado através de um lactímetro de bolso, no qual se aplicam tiras testes de característica quantitativa, utilizando o fotômetro de reflexão pela reação colorimétrica do mediador lactato-oxidase. Os fatores que determinaram a escolha desse método foram a realização de um exame sofisticado em menor tempo, sem a preocupação de transportar o traumatizado grave ou material coletado para outro setor (TERZI *et al.*, 1998). Esse método permite que haja a possibilidade de ser aplicada a dosagem do lactato no atendimento pré-hospitalar, onde se inicia o tratamento do choque hemorrágico. Quando se avaliam os valores médios iniciais da RB e lactato com os do CHC e final da MP, constata-se a presença de hipoperfusão tecidual em todos os grupos.

A duração e o nível do lactato são importantes preditores de mortalidade e morbidade. Nos pacientes críticos, quando ocorre sua normalização (2 mmol/L ou menor) dentro das primeiras 24 horas, a taxa de sobrevivência atinge 100%

(VINCENT *et al.*, 1983; ABRAMSON *et al.*, 1983; MANIKIS *et al.*, 1995). A mensuração do lactato realizada em RP60 (TABELA 8) mostra manutenção de valores altos no GSH, diferenciando-se estatisticamente do GSF ($p=0,0234$). Mediante este fato houve óbitos de animais entre PR60 e PR120 .

A RB é outro parâmetro metabólico disponível para avaliar a gravidade do estado de choque hemorrágico e apresenta uma correlação com o nível do lactato (DAVIS *et al.*, 1994).

Na acidose metabólica o potássio desloca-se do meio intracelular para o extracelular, promovendo um fluxo inverso do hidrogênio. Esse mecanismo de compensação leva a um aumento do potássio sérico. Durante o presente estudo, foram constatadas elevações dos níveis séricos deste cátion em todos os grupos após o período da MP. Ao PR60, o eletrólito mantinha-se em níveis superiores aos basais, independente do cristalóide utilizado. Entretanto, há outro fator que contribui para o seu aumento sérico como, por exemplo, a lesão tecidual decorrente da má perfusão.

A utilização de soluções salinas na reanimação volêmica, seja pela quantidade ou pela concentração, pode promover alterações nos níveis séricos do sódio. O sódio sérico apresentou-se elevado, com diferença estatística, nos grupos GSF e GSH, após MP ($p=0,0016$), em relação ao GRL que desaparece em RP60. Essa diferença do eletrólito, antes do período de reperfusão, entre os grupos ocorre provavelmente em razão de serem soluções compostas de cloreto de sódio. De acordo com a literatura, após CHC, o GSH apresentou maior elevação do sódio sérico após a reposição volêmica inicial (KOLSEN-PETERSEN *et al.*, 2005).

Observou-se no estudo queda do Hto durante a instalação do CHC, provavelmente pela mobilização dos fluidos intracelular e intersticial, como mecanismo de compensação, para o meio intravascular (DRUCKER *et al.*, 1981; HALJAMAE, 1984). Outro fator que contribui para diminuição do Ht é o fato de que a MP promove uma estagnação de sangue na circulação esplâncnica e conseqüente seqüestro de parte do volume sistêmico, exigindo administração de grande volume para manutenção da PAM $>$ ou $=$ 40mmHg, ocorrendo, então, maior hemodiluição (GONCE *et al.*, 1995;

HIRANO *et al.*, 2005). No PR60, os valores hematimétricos retornam aos níveis basais, exceto no grupo SH ($p=0,0021$).

Após o período de estado de choque, com o objetivo de se elevar a PAM até 80 mmHg, o volume infundido da solução em estudo e complementar foi menor no GSH em relação ao GRL ($p=0,0361$), porém ambos sem diferenças significativas com os animais do grupo SF. Nos tempos experimentais seguintes, quando se usou a solução de Ringer com lactato em todos os grupos, e onde são necessários elevados volumes para manutenção das pressões, a diferença estatística desaparece.

HEALEY *et al.* (1998) demonstraram em estudo experimental que a reanimação após perda maciça de sangue, com solução salina, promove maior índice de mortalidade em relação à solução Ringer com lactato. CHOI *et al.*, (1999) em um estudo de meta-análise, constataram que a mortalidade apresentou-se maior no subgrupo de vítimas de trauma que foram reanimadas com colóide em relação à solução cristalóide.

O Gráfico 11 demonstra as curvas de sobrevida estimadas pelo método de Kaplan-Meier. A Tabela 11 mostra que a sobrevida não foi diferente nos três grupos estudados ($p=0,2002$ - teste de Breslow e $p=0,2435$ - teste de *log-rank*).

Estudando-se as variáveis que provavelmente apresentariam influência sobre o tempo de sobrevida, verificou-se que o lactato medido no PR60 mostrou um valor de $p=0,0068$ e uma razão de risco de 1,41 a cada unidade, independentemente do grupo ao qual pertencia o animal, mostrando novamente a importância do lactato sanguíneo como um indicador da gravidade do choque (PORTER e IVATURY, 1998). No PR60, o lactato apresentou-se elevado e estatisticamente diferente no GSH em relação aos demais grupos ($p=0,015$), demonstrando que, apesar do controle da PAM em torno de 80 mmHg, a hipoperfusão tecidual estava presente neste grupo.

Conforme a literatura, na prática clínica, o choque hemorrágico não é encontrado isoladamente, estando frequentemente associado a lesões de órgãos. Separadamente, o choque hemorrágico e a isquemia hepática transitórias são bem tolerados pelo organismo, mas estes dois processos podem ocorrer ao mesmo tempo e as

combinações dos seus efeitos podem causar sérias lesões hepáticas e/ou em órgãos distantes (ÖZGÜÇ *et al.*, 2003). Portanto, em relação aos resultados obtidos das variáveis e da curva de sobrevivência neste estudo, deve-se considerar o modelo experimental utilizado. Ressalta-se que a MP em ratos acima de 30 minutos, resulta em elevada mortalidade (MEIJA, 1964; GONCE *et al.*, 1995).

Outro fator importante na comparação dos resultados entre a prática clínica e experimental é a diferença dos órgãos em relação ao peso, conforme demonstrada na Tabela 13 (LEWINSOHN *et al.*, 1980; WEIHE, 1987).

Tabela 13- Comparação da porcentagem em relação ao peso do corpo de diversos órgãos em ratos e em seres humanos

Espécie	Trato digestivo	Fígado	Rins	Pulmão	Coração	Cérebro
Homem	4,2	2,1	0,4	1,2	0,5	2,3
Rato	7,46	3,3	0,75	1,13	0,59	0,99

Como demonstrado, a porcentagem de participação do trato digestivo no rato é maior do que no ser humano, portanto contribuindo para maior gravidade na MP.

Estudos mostraram que apesar da reanimação para níveis normais de pressão arterial, a hipoperfusão persiste no fígado, intestino delgado, baço e músculo esquelético (WANG *et al.*, 1990; FLYNN *et al.*, 1991; SCANNELL *et al.*, 1992; MATHESON *et al.*, 2000).

Mediante isto, a literatura apresenta estudos de utilização de diferentes soluções de reanimação volêmica para verificar a influência na resposta inflamatória após o estado de choque (RIZOLI *et al.*, 1998; RHEE *et al.*, 2000).

As soluções cristalóides isotônicas equilibram-se livremente entre os espaços intravascular e intersticial, expandindo ambos os compartimentos. Seu efeito hemodinâmico, entretanto, tem curta duração, exigindo frequentemente infusão de grandes volumes.

A preferência pela de solução Ringer com lactato em relação à solução fisiológica tem como base a potencial acidose causada pelo altos níveis de cloro que pode ocorrer quando se consideram os elevados volumes necessários na reanimação, além do lactato servir como substrato energético. Entretanto, diversos aspectos vêm sendo discutidos em relação à solução de Ringer com lactato, uma mistura racêmica contendo os isômeros L(+) e D(-), 14 mmoles/L de cada forma. Além de produzir diversos distúrbios cardíacos (DELMAN *et al.*, 1996), o isômero D(-) causa um aumento de espécies reativas de oxigênio, pelos neutrófilos, e afeta a expressão de genes de leucócitos envolvidos nos fenômenos da inflamação, da migração celular e da apoptose (KOUSTOVA *et al.*, 2002). A indução de apoptose no intestino delgado e no fígado com o uso de RL na reanimação após choque hemorrágico foi observada por DEB *et al.* (1999), o que não aconteceu com o uso de solução hipertônica ou sangue total.

A solução hipertônica de cloreto de sódio (7,5%) representa uma alternativa para uma infusão menor de volume, em função da pressão osmótica e redistribuição de líquido para o compartimento extracelular (de FELIPPE *et al.*, 1980). A hipernatremia e a hiperosmolaridade são controladas pelo uso de doses adequadas, definindo 4mL/kg, o que equivale a um aumento plasmático de sódio de 10 a 15mEq/L (ROCHA e SILVA, 1996). Estudo clínico demonstra que o uso de SH não apresenta maiores complicações em relação à SF e ao dextran 70, com o benefício de maior expansão volêmica e menor uso da quantidade de cristalóide e hemoderivados na reanimação (YOUNES *et al.*, 2001; YOUNES e BIROLINI, 2002). KOLSEN-PETERSEN *et al.*, (2005) utilizaram a solução em pacientes normovolêmicas, sendo constatadas alterações no equilíbrio ácido-básico e eletrolíticas: a) aumento do sódio e do cloro; b) diminuição inicial do potássio, com posterior elevação; c) diminuição do pH e da RB.

A reanimação volêmica no tratamento do estado de choque hemorrágico tem como objetivos: a) recuperar a perfusão tecidual; b) reduzir a intensidade da SRIS, c) inibir a ativação e seqüestro de neutrófilos e d) conseqüentemente diminuir a produção de radicais livres.

O intestino delgado sob estado de hipoperfusão ou durante PR produz citocinas, que são moléculas proinflamatórias que produzem lesão em órgãos distantes, mesmo na ausência de bactérias (DEITCH *et al.*, 1994). O tecido hepático contém elevado número de macrófagos que, durante o estado de choque hemorrágico, desencadeiam uma resposta inflamatória local e/ou sistêmica com elevação significativa das citocinas (ÖZGÜÇ *et al.*, 2003). Outro efeito das citocinas é a ativação de neutrófilos. Ocorre, então, supressão da função imune e lesão em órgãos e sistemas críticos como o rim, fígado e pulmão (MANTOVANI *et al.*, 2002, MANTOVANI *et al.*, 2003, HIRANO *et al.*, 2005).

Os NTF após serem ativados possuem em sua superfície complexos denominados CD11/CD18 que interagem com as ICAM-1 do endotélio (BARNETT *et al.*, 1995). Em seguida, acumulam-se nos interstícios dos tecidos, onde liberam proteases, elastases e geram radicais livres. No processo de instalação de lesões renais, os NTF ativados desempenham papel fundamental (CARDEN *et al.*, 1998; MESSENT *et al.*, 1996).

A presença de NTF nos tecidos pode ser detectada pela determinação do nível de mieloperoxidase; entretanto, este método pode ser prejudicado devido: 1) reação cruzada com enzimas dos monócitos/macrófagos; 2) o nível da enzima não diferencia entre NTF aderidos e circulantes; 3) outras mieloperoxidases (hemoglobina “pseudoperoxidase” e catalase) (ANDERSON *et al.*, 1991b; YSEBAERT *et al.*, 2000). Portanto, como a avaliação bioquímica da presença de neutrófilos nos tecidos pode sofrer a influência dos fatores expostos, a contagem dessas células torna-se um parâmetro fidedigno.

O seqüestro de NTF é um fenômeno tempo-dependente. No interstício hepático e pulmonar ocorre dentro das duas primeiras horas da reperfusão, e conforme a intensidade e duração, o início da disfunção deste órgãos é detectado após seis horas (BOTHAN *et al.*, 1995b).

Estudos mostraram que há vantagens no uso da solução hipertônica (DEITCH *et al.*, 2003; GURFINKEL *et al.*, 2003, KOLSEN-PETERSEN *et al.*, 2005), como a redução na interação entre células polimorfonucleares e células endoteliais, tendo como resultado a redução do seqüestro de neutrófilos (COIMBRA *et al.*, 1996; RIZOLI *et al.*, 1998; ANGLE *et al.*, 1998; RIZOLI *et al.*, 1999).

O tempo de sobrevida foi considerado neste modelo experimental, pois haveria influência dessa variável sobre o número de neutrófilos, pois, na prática clínica, ocorrem óbitos e sobreviventes em grupos de pacientes com as mesmas doenças e tratamentos iguais.

Entretanto, em condições específicas, como no modelo que utilizou ratos desidratados (MALCOLM *et al.*, 1993), a mortalidade foi menor nos animais reanimados com solução de Ringer com lactato comparada com solução hipertônica. No estudo de McKIRMAN *et al.*, (1994), utilizando um modelo suíno, obtiveram resultados semelhantes entre RL e SH.

Recentemente, outro estudo clínico aponta que a solução hipertônica promove uma resposta inflamatória não exacerbada, semelhante a modelos experimentais (RIZOLI *et al.*, 2006). Entretanto, o uso da SH pode apresentar complicações, como: sangramento, hipernatremia, disfunção cardíaca, acidose hiperclorêmica e reações alérgicas.

A disfunção renal é uma situação que ocorre freqüentemente após procedimentos cirúrgicos de grande porte, choque hemorrágico traumático e queimaduras extensas entre outros. A lesão renal provavelmente é decorrente da isquemia, o que promove hipóxia local e que é agravada pela reperfusão renal. Os neutrófilos têm papel fundamental no mecanismo da lesão renal após o processo de I/R, potencializando a reação inflamatória por produzirem substâncias vasoconstritoras, citocinas, superóxido e proteases. Essa correlação é evidenciada em outros órgãos: miocárdio, fígado e cérebro. (HALLENBECK *et al.*, 1984; LUCCHESI *et al.*, 1990; VOLLMAR *et al.*, 1994).

A lesão renal ou de outros órgãos mediada pelos neutrófilos ativados é decorrente de três fatores: a) produção de radicais livres; b) aumento e liberação de enzimas (ex: elastase) e c) obstrução mecânica de capilares (WEIGHT *et al.*, 1996).

As contagens de neutrófilos no córtex do rim direito apresentadas na Tabela 12 exibiram diferenças estatisticamente significativas entre os cristalóides utilizados, usando-se ou não o ajuste pelo tempo de sobrevivência ($p=0,0166$ e $p=0,0128$, respectivamente), sendo o menor valor médio encontrado no GSF.

Com base na literatura, poderia se esperar que o GSH apresentaria o menor número de neutrófilos seqüestrados. De fato, alguns resultados apontam vantagens no uso da solução salina hipertônica como o menor volume utilizado na reanimação no choque e melhora do índice cardíaco durante 15 minutos de isquemia hepática. Entretanto, deve-se ter em consideração o modelo definido para o presente estudo em que há duas situações de isquemia e reperfusão: choque hipovolêmico/reanimação e isquemia/reperfusão hepática pela MP. A maioria dos trabalhos na literatura avaliam um evento ocorrendo uma vez, e no presente estudo o fenômeno isquemia/reperfusão repete-se.

5.1 Considerações finais

As abordagens iniciais no tratamento do paciente com choque hemorrágico são a reanimação volêmica e a correção da lesão sangrante.

Entretanto, o sucesso do tratamento inicial apenas é completo quando as complicações do período pós-operatório não forem suficientemente desfavoráveis para a sobrevivência.

O objetivo da reanimação volêmica é recuperar a perfusão tecidual. Entretanto, dependendo da duração e intensidade do choque hemorrágico e da associação de comorbidades, ou de condições agravantes, a reperfusão torna-se uma segunda agressão, pela elevação da produção de peróxidos através da ativação dos neutrófilos.

O presente trabalho estabelece um modelo experimental de duas situações críticas no trauma: I/R hepática e o CH. Este modelo, baseando-se na revisão de literatura, tem como finalidade avaliar os princípios das alterações sistêmicas que desencadeiam a SDMO, tendo como ponto de referência a lesão renal.

Portanto, a partir desses princípios e diante dos resultados deste trabalho experimental, torna-se primordial que novos estudos sejam realizados para melhor compreensão dos mecanismos de lesão tecidual provocada tanto no estado de má perfusão quanto no período de reperfusão, assim como estabelecer o melhor tipo de solução a ser utilizada na reanimação volêmica, com a menor manifestação de resposta da inflamatória sistêmica.



6- CONCLUSÕES

O presente estudo experimental de choque hemorrágico controlado em ratos, com uso de diferentes soluções na reanimação, seguido pela Manobra de Pringle e acompanhado por um período de até 120 minutos, permitiu as seguintes conclusões:

- a) O volume de fluidos de reanimação utilizado no tratamento do choque hemorrágico foi menor no GSH em comparação ao GRL, entretanto sem diferença estatística com GSF.
- b) O GSH apresentou maior nível de lactato sanguíneo no PR60 em relação ao GSF, entretanto sem diferença estatística com GRL.
- c) O lactato sanguíneo é um marcador de gravidade do choque hemorrágico, relacionando-se com a taxa de sobrevivência.
- d) O modelo promoveu seqüestro de neutrófilos com o uso de diferentes soluções.
- e) Os animais do GSF apresentaram menor seqüestro de PMN, comparativamente aos demais grupos.
- f) O valor médio de neutrófilos seqüestrados ajustado com a sobrevivência manteve o GSF com o menor valor, comparativamente aos demais grupos.



7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMSON D, SCALEA TM, HITCHCOCK R, TROOSHIN SZ, HENRY SM, GREENSPAN J. Lactate clearance and survival following injury. **J Trauma** 1993; 35:584-9.

AGGARWAL S, KANG Y, FREEMAN JA, FORTUNATO FL, PINSKY MR. Postreperfusion syndrome: cardiovascular collapse following hepatic reperfusion during liver transplantation. **Transplant Proc** 1987;19:54-5.

AKAGI M, AKAGI R. Hepatic ischemia-reperfusion injury to the cardiovascular system in rats. **Jpn J Pharmacol** 1992;58:306p.

AMBROSIO G, WEISFELDT ML, JACOBUS WE, FLAHERTY JT. Evidence for a reservible oxygen radical-mediated component of reperfusion injury: reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the reflow. **Circulation** 1987;75:282-91.

AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS/SOCIETY OF CRITICAL CARE MEDICINE CONSENSUS CONFERENCE: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. **Crit Care Med** 1992;18:864-74.

ANDERSON BO, BROWN JM, SHANLEY PF, BENSARD DD, HARKEN AH. Marginating neutrophils are reversibly adherent to normal lung endothelium. **Surgery** 1991a;109:51-61.

ANDERSON BO, BROWN JM, HARKEN AH. Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. **J Surg Res** 1991b;51:170-9.

ANDERSON RW, VASLEF SN. Choque: causas e controle do colapso circulatório. In: SABBISTON D C Jr. **Tratado de Cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. 15.ed., Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1999. p.63-85, vol.1.

ANGLE N, HOYT DB, CABELLO-PASSINI R, HERDON-REMELIUS C, LOOMIS W, JUNGER WG. Hypertonic saline resuscitation reduces neutrophil margination by suppressing neutrophil L selectin expression. **J Trauma** 1998;45:7-12.

AYALA A, WANG P, BA ZF, PERRIN MM, ERTEL W, CHAUDRY IH. Differential alterations in plasma IL-6 and TNF levels after trauma and hemorrhage. **Am J Physiol** 1991;260:167-71.

BACELAR Jr JC, REPKA JC, EIDT J, FONSECA VRCD, SALLES Jr G, SOUZA-LIMA MB. Avaliação de hidrato de cloral, tiopental sódico e associação cetamina/xilazina na anestesia em ratos. **Acta Cir Bras** 1999;14:149.

BARNETT CC, MOORE EE, MOORE FA, BIFFL WL, SMITH MF Jr, CARL VS. Intercellular adhesion molecule-1 promotes neutrophil-mediated cytotoxicity. **Surgery** 1995;118:171-5.

BARON BJ, SCALEA TM. Acute blood loss. **Emerg Med Clin North Am** 1996; 14:35-55.

BECKER KJr. Resolved: a pulmonary artery catheter should be used in the management of the critically ill patient. **J Cardiothorac Vasc Anesth** 1998;12:13-6.

BELLAMY RF, PEDERSON DC, DeGUZMAN LR. Organ blood flow and the cause of death following massive hemorrhage. **Circ Shock** 1984;14:113-27.

BERNE RM, LEVY MN. **Cardiovascular physiology**, 7th ed. Saint Louis, MO: Mosby, 78-81, 1997.

BITTERMAN H, BROD V, WEISZ G, KUSHNIR D, BITTERMAN N. Effects of oxygen on regional hemodynamics in hemorrhagic shock. **Am J Physiol** 1996;271:203-11.

BIVIN WS, CRAWFORD MP, BREWER NR. Morphophysiology. In: BAKER HJ, LINDSEY JR, WEISBROTH SH. **The Laboratory Rat**. Florida, USA, Academic Press, 1979. p.87.Vol. 1.

BLAIR E, COWLEY RA, TAIT MK. Refractory septic shock in man: role of lactate and pyruvate metabolism and acid-base balance in prognosis. **Am Surg** 1965;31:537-40.

- BLALOCK A, BRADBURN H. Distribution of blood in shock. **Arch Surg** 1930;20:26.
- BOOTH NH. Clinical stage of general anesthesia. In: **Veterinary pharmacology and therapeutics**. 5.ed., N.H. Booth and L.E. McDonald eds., Iowa State University Press, Ames, IA., 1982. p.165-74.
- BRODER G, WEIL MH. Excess lactate: An index of reversibility of shock in human patients. **Science** 1964;143:1457-59.
- BOTHA AJ, MOORE FA, MOORE EE, KIM FJ, BANERJEE A, PETERSON VM. Postinjury neutrophil priming and activation: an early vulnerable window. **Surgery** 1995a;118:358-64.
- BOTHA AJ, MOORE FA, MOORE EE, SAUAIA A, BANERJEE A, PETERSON VM. Early neutrophil sequestration after injury: a pathogenic mechanism for multiple organ failure. **J Trauma** 1995b;39:411-7.
- CADY L, WEIL MH, ABDELMONEM AA. Quantitation of severity of critical illness with special reference to blood lactate. **Crit Care Med** 1973;1:75-80.
- CANNON WB, FRASER J, COWELL EM. The preventative treatment of wound shock. **JAMA** 1918;70:618-21.
- CARDEN D, XIAO F, MOAK C, WILLIS BH, ROBINSON-JACKSON S, ALEXANDER S. Neutrophil elastase promotes lung microvascular injury and proteolysis of endothelial cadherins. **Am J Physiol** 1998;275:385-92.
- CHOI PT, YIP G, QUINONEZ LG, COOK DJ. Crystalloids vs colloids in fluid resuscitation: a systematic review. **Crit Care Med** 1999;27:200-10.
- CHIARA O, PELOSI P, SEGALA M, TURCONI MG, BRAZZI L, BOTTINO N, et al. Mesenteric and renal oxygen transport during hemorrhage and reperfusion: evaluation of optimal goals for resuscitation. **J Trauma** 2001;51:356-62.

CRILE GW. An experimental research into surgical shock (Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1899) *apud* THAL AP, BROWN EB Jr, HERMERECK AS, BELL HH. Desenvolvimento do conceito. In: Thal AP, et al. **Choque: bases fisiológicas para o seu tratamento**. São Paulo, Atheneu, 1977. p.21-39.

COIMBRA R, JUNGER NG, HOYT DB, LIU FC, LOOMIS WH, EVERS MF. Hypertonic saline resuscitation restores hemorrhage-induced immunosuppression by decreasing prostaglandin E(2) and interleukin-4 production. **J Surg Res** 1996; 64:203-9.

CUNNINGHAM JN Jr, SHIRES GT, WAGNER Y. Changes in intracellular sodium and potassium content of red blood cells in trauma and shock. **Am J Surg** 1971;122:650-4.

DAROVIC GO, VANRIPER S. Arterial pressure recording. In: Darovic GO, ed. **Hemodynamic monitoring**, 2nd edn. Philadelphia, WB Saunders;1995.p.177-210.

DAVIS JW, SHACKFORD SR, MACKERSIE RC, HOYT DB. Base deficit as a guide to volume resuscitation. **J Trauma** 1988;28:1464-7.

DAVIS JW. The relationship of base deficit to lactate in porcine hemorrhagic shock and resuscitation. **J Trauma** 1994;36:168-72.

de FELIPPE Jr J, TIMONER J, VELASCO IT, LOPES OU, ROCHA-SILVA M Jr. Treatment of refractory hypovolemic shock by 7,5% sodium chloride injections. **Lancet** 1980;2:1002-4.

DEB S, MARTIN B, SUN L, RUFF P, BURRIS D, RICH N, DeBREUX S, AUSTIN B, RHEE P. Resuscitation with lactate Ringer's solution in rats with hemorrhagic shock induces immediate apoptosis. **J Trauma** 1999;46:582-9.

DEITCH EA, XU D, FRANKO L, AYALA A, CHAUDRY IH. Evidence favoring the role of the gut as a cytokine-generating organ in rats subjected to hemorrhagic shock. **Shock** 1994;1:141-6.

DEITCH EA, SHI HP, FEKETEVA E, HAUSER CJ, XU DZ. Hypertonic saline resuscitation limits neutrophil activation after trauma-hemorrhagic shock. **Shock** 2003;4:328-33.

DELMAN K, MALEK SK, BUNDZ S, ABUMRAD NN, LANG CH, MOLINA PE. Resuscitation with lactate Ringer's solution after hemorrhage. Lack of cardiac toxicity. **Shock** 1996;5:298-303.

DELVA E, CAMUS Y, NORDLINGER B, HANNOUN L, PARC R, DERIAZ H, et al. Vascular occlusions for liver resections: operative management and tolerance to hepatic ischemia: 142 cases. **Ann Surg** 1989;209:211-8.

DRUCKER WR, CHADWICK CDJ, GANN DS. Transcapillary refill in hemorrhage and shock. **Arch Surg** 1981;116:1344-53.

DRUMMOND JP, SILVA E. Introdução. In: Drummond JP, Silva E. **Choque**, Porto Alegre, Artes Médicas;1996.p.19-20.

DUCASTAING R. La vaso-constriction peripherique chez les shockes: Action du nitrite d'amile. **Presse Méd.** 27:782, 1919 *apud* THAL AP, BROWN EBJr, HERMERECK AS, BELL HH. Desenvolvimento do conceito. In: Thal, A.P. et al. **Choque: bases fisiológicas para o seu tratamento**. São Paulo, Atheneu;1977. p.21-39.

ERIKSSON E, STRAUBE RC, ROBSON MC. White blood cell consumption in the microcirculation after a major burn. **J Trauma** 1979;19:94-7.

EURENIUS K, BROUSE RO. Granulocyte kinetics after thermal injury. **Am J Clin Pathol** 1973;60:337-42.

FERNANDES Jr CJ, AKAMINE N, KNOBEL E. Monitorização hemodinâmica, transporte de oxigênio e tonometria. In: Knobel, E. **Condutas no paciente grave**. 2ª ed., São Paulo, Atheneu, 1998. p.75-101, vol.1.

FISH RE. Pharmacology of injectable anesthetics. In: KOHN DF, WIXSON SK, WHITE WJ, BENSON GJ. **Anesthesia and analgesia in laboratory animals**. Londres:Academic Press; 1982.p1-28.

FLECKNELL PA. **Laboratory animal anesthesia**, 2^a. ed, Londres:Academic Press; 1996, p.274.

FLYNN WJ, CRYER HG, GARRISON RN. Pentoxifylline restores intestinal microvascular blood flow during resuscitated hemorrhagic shock. **Surgery** 1991;110:350-6.

FUJISHIMA S, AIKAWA N. Neutrophil-mediated tissue and its modulation. **Intensive Care Med** 1995;21:277-85.

GONCE ME, BRACKETT DJ, SQUIRES RA, GIBSON DD, BALLA AK, LERNER MR, et al. Development of circulatory and metabolic shock following transient portal triad occlusion. **J Surgery Res** 1995;59:534-43.

GRACE PA. Ischaemia-reperfusion injury. **Br J Surg** 1994;81:637-47.

GRANGER DN, KORTHUIS RJ. Physiologic mechanism of postischemia tissue injury. **Ann Rev Physiol** 1995;57:311-2.

GUTE D, KORTHUIS RJ. Role of leukocytes adherence in reperfusion-induced microvascular dysfunction and tissue injury. In: GRANGER DN, SMIDT-SCHONBEIN GW (eds). **Physiology and Pathophysiology of leukocyte adhesion**. U.S.A.,New York: Oxford, 1995.p.359-80.

GURFINKEL V, POGGETTI RS, FONTES B, NOVO FCF, BIROLINI D. Hypertonic saline improves tissue oxygenation and reduces systemic and pulmonary inflammatory response caused by hemorrhagic shock. **J Trauma** 2003;54:1137-45.

HALJAMAE H. Interstitial fluid response. **Clin Surg Internat** 1984;9:44-60.

HALLENBECK JM, DUTKA AJ, TANISHIMA T, KOCHANNEK PM, KUMAROO KK, THOMPSON CB, OBRENOVITCH TP, CONTRERAS TJ. Polymorphonuclear leukocyte accumulation in brain regions with low blood flow during the early postischemic period. **Stroke** 1986;17:246-53.

HAYASHI H, CHAUDRY IH, CLEMENS MG, BAUE AE. Hepatic ischemia models for determining the effects of ATP-Mg Cl₂ treatment. **J Surgery Res** 1986;40:167-75.

HEALEY MA, DAVIS RE, LIU FC, LOOMIS WH, HOYT DB. Lactated Ringer's is superior to normal saline in a model of massive hemorrhage and resuscitation. **J Trauma** 1998;45:894-9.

HENDERSON Y. Acapnia and shock I. Carbon dioxide as a factor in the regulation of the heart rate. **Am J Physiol** 1908;21:126.

HIRANO ES, MORANDIN RC, MANTOVANI M. Efeitos da manobra de Pringle nos níveis pressóricos em condições de normalidade e estado de choque hemorrágico controlado no rato. **Acta Cir Bras** 1999;14(supl. 2):69.

HIRANO ES, MANTOVANI M, MORANDIN RC, FONTELLES MJP. Modelo experimental de choque hemorrágico. **Acta Cir Bras** 2003;18:465-70.

HIRANO ES, MANTOVANI M, MORANDIN RC. Isquemia e reperfusão hepática total em condições de normalidade e sob estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no sequestro de neutrófilos no rim do rato. **Acta Cir Bras** 2005;20:292-9.

HORIUCHI T, MURAOKA R, TABO T, UCHINAMI M, KIMURA N, TANIGAWA N. Optimal cycles of hepatic ischemia and reperfusion intermittent pedicle clamping during liver surgery. **Arch Surg** 1995;130:754-8.

ISOZAKI H, ADAM R, GIGOU M, SZEKELY AM, SHEN M, BISMUTH H. Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. **Br J Surg** 1992;79:310-3.

ISOZAKI H, OKAJIMA K, KOBAYASHI M, HARA H, AKIMOTO H. Experimental study of liver injury after partial hepatectomy with intermittent or continuous hepatic vascular occlusion. Differences in tolerance to ischemia between normal and cirrhotic livers. **Eur Surg Res** 1995;27:313-22.

JENG JC, LEE K, JABLONSKI K, JORDAN MH. Serum lactate and base deficit suggest inadequate resuscitation of patients with burn injuries: application of a point-of-care laboratory instrument. **J Burn Care Rehabil** 1997;18:402-5.

JONAS J, HEIMANN A, STRECKER U, KEMPSHI O. Hypertonic/hyperoncotic resuscitation after intestinal superior mesenteric artery occlusion. Early effects on circulation and intestinal reperfusion. **Shock** 2000;14:24-9.

KINCAID EH, MILLER PR, MEREDITH JW, RAHMAN N, CHANG MC. Elevated arterial base deficit in trauma patients: a marker of impaired oxygen utilization. **J Am Coll Surg** 1998;187:384-92.

KOHN DF, WIXSON SK, WHITE WI, BENSON GI. Anesthesia and analgesia in laboratory animals. 1^a ed., Londres, **Academic Press**, 1997.p.426.

KOLSEN-PETERSEN JA, NIELSEN JOD, TONNESSEN E. Acid base and electrolyte changes after hypertonic saline (7,5%) infusion: A randomized controlled clinical trial. **Scand J Clin Lab Invest** 2005;65:13-22.

KOMATSU H, KOO A, GHADISHAH E, ZENG H, KUHLENKAMP JF, INOUE M, et al. Neutrophil accumulation in ischemic reperfused rat liver: evidence for a role for superoxide free radicals. **Am J Physiol** 1992;262:669-76.

KORTHUIS R J, GUTE DC, BLECHA F, ROSS CR. PR-39, a proline/arginine-rich antimicrobial peptide, prevents postischemic microvascular dysfunction. **Am J Physiol** 1999;277:1007-13.

KOUSTOVA E, STANTON K, GUSHCHIN V, ALAM HB, STEGALKINA S, RHEE PM. Effects of lactate Ringer's solutions on human leucocytes. **J Trauma** 2002;52:872-8.

KVARSTEIN G, MIRTAHERI P, TONNESSEN TI. Detection of organ ischemia during hemorrhagic shock. **Acta Anaest Scand** 2003;47:675-86.

LATTA T. Treatment of malignant cholera. **Lancet** 2:1831 *apud* THAL AP, BROWN EB Jr, HERMERECK AS, BELL HH. Desenvolvimento do conceito. In: Thal AP, et al. **Choque: bases fisiológicas para o seu tratamento**. São Paulo, Atheneu, 1977. p.21-39.

LEE CC, MARILLI KA, CARTER WA, CRUPI RS. A current concept of trauma-induced multiorgan failure. **Ann Emerg Med** 2001;38:170-6.

LEWINSOHN R, GLOVER V, SANDLER M. Development of benzylamine oxidase and monoamine oxidase A and B in man. **Biochem Pharmac** 1980;29:1221-30.

LIU PT, SYMONS AM, HOWARTH JA, BOULTER S, PARKE DV.. Studies in surgical trauma oxidative stress in ischemia-reperfusion of rat liver. **Clin Sci** 1994;86:443-60.

LORENZI TF. Leucócitos. In: AIRES MM. (ed). **Fisiologia**, Brasil, Guanabara-Koogan, 1991. p.75-93.

LUCCHESI BR. Modulation of leukocyte-mediated myocardial reperfusion injury injury. **Annu Rev Physiol** 1990;52:561-76.

MALCOLM DS, FRIEDLAND M, MOORE T, BEAAUREGARD J, HUFNAGEL H, WIESMANN WP. Hypertonic saline resuscitation detrimentally affects renal function and survival in dehydrated rats. **Circ Shock** 1993;40:69-74.

MANIKIS P, JANKOWSHI S, ZHANG H, KAHN RJ, VINCENT JL. Correlation of serial blood lactate levels to organ failure and mortality after trauma. **Am J Emerg Med** 1995;13:619-22.

MANTOVANI M, FONTELLES MJ, HIRANO ES, MORANDIN RC, CAPUTO LRG, SCHENKA AA. Isquemia e reperfusão hepática total associada ao estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no seqüestro de neutrófilos no pulmão do rato. **Acta Cir Bras** 2002;17:46-54.

MANTOVANI M, FONTELLES MJ, HIRANO ES, MORANDIN RC, CAPUTO LRG, SCHENKA AA. Isquemia e reperfusão hepática total associada ao estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no seqüestro de neutrófilos no fígado do rato. **Rev Col Bras Cir** 2003;30:275-81.

MARUBAYASHI S, DOHI K, OCHI K, KAWASAKI T. Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: prevention of damage by α -tocopherol administration. **Surgery** 1986;99:184-92.

MATHESON PJ, WILSON MA, GARRISSON RN. Regulation of intestinal blood flow. **J Surg Res** 2000;93:182-96.

McKIRMAN MD, WILLIAM RL, LIMJOCO U, RAGLAND J, GRAY CG. Hypertonic saline/dextran versus lactate Ringer's treatment for hemorrhage in dehydrated swine. **Circ Shock** 1994;44:238-46.

McNAMARA JJ, SUEHIRO GT, SUEHIRO A, JEWETT B. Resuscitation from hemorrhagic shock. **J Trauma** 1983;23:552-8.

MEIJA RH. Hypovolemic shock in the rat. **Acta Physiol Lat Am** 1964;14:77.

MENDES VCQ, SILVA WA, MORAES AC, ALVIM MCF, TERZI RGG. Avaliação preliminar de um modelo metabólico de choque hemorrágico no rato. **Acta Cir Bras** 1997;12:21.

METCHNIKOFF E. Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes. **Ann Inst Pasteur**,1:321,1887 *apud* ANDERSON BO, BROWN JM, HARKEN AH. Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. **J Surg Res** 1991;51:170-9.

MESSENT M, GRIFFIHS MJ, QUINLAN GJ, GUTTERIDGE JM, EVANS TW. Ischaemia-reperfusion injury in the rat is modulated by superoxide generation and leads to an augmentation of the hypoxic pulmonary vascular response. **Clin Sci** 1996;90:47-54.

MOOMEY CB Jr, MELTON SM, CROCE MA, FABIAN TC, PROCTOR KG. Prognostic value of blood lactate, base deficit, and oxygen-derived variables in an LD50 model of penetrating trauma. **Crit Care Med** 1999;27:154-61.

MYTHEM MG, WEBB AR. The role of gut mucosal hypoperfusion in the pathogenesis of post-operative organ dysfunction (see comments). **Intensive Care Med** 1994;20:203-9.

NICHOLS WW, O'ROURKE MF. McDonald's blood flow in arteries, 3rd edn. Philadelphia: Lea & Febiger; 1990.

NOVAK L, SHACKFORD SR, BOURGUIGNON P, NICHOLS P, BUCKINGHAM S, OSLER T, SARTORELLI K. Comparison of standard and alternative prehospital resuscitation in uncontrolled hemorrhagic shock and head injury. **J Trauma** 1999; 47:834-44.

ÖZGÜÇ H, TOKYAY R, KAHVECI N, SERDAR Z, GÜR ES. Hypertonic saline dextran alleviates hepatic injury in hypovolemic rats undergoing porta hepatic occlusion. **Shock** 2003;19:383-4.

PACHTER HL, SPENCER FC, HOFFSTETTER SR, LIANG HG, COPPA GF. Significant trends in the treatment of hepatic trauma. Experience with 411 injuries. **Ann Surg** 1992;215:492-02.

PANES J, GRANGER DN. Leukocyte-endothelial cell interaction: molecular mechanism and implications in gastrointestinal disease. **Gastroenterology** 1998;114:1066-90.

PRINGLE JH. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. **Ann Surg** 1908;48:541-9.

PORTER JM, IVATURY RR. In search of the optimal end points of resuscitation in trauma patients: A review. **J Trauma** 1998;44:908-14.

RHEE P, BURRIS D, KAUFMANN C, PIKOULIS M, AUSTIN B, LING G, HARVIEL D, WAXMAN K. Lactated Ringer's solution resuscitation causes neutrophil activation after hemorrhagic shock. **J Trauma** 1998;44:313-9.

RHEE P, WANG D, RUFF P, AUSTIN B, DeBRAUX S, WOLCOTT K et al. Human neutrophil activation and increased adhesion by various resuscitation fluids. **Crit Care Med** 2000;28:74-8.

RIZOLI SB, KAPUS A, FAN J, LI Y, MARSHALL JC, ROTSTEIN OD. Immunomodulatory effects of hypertonic resuscitation on the development of lung inflammation following hemorrhagic shock. **J Immunol** 1998;161:6288-96.

RIZOLI SB, KAPUS A, PARODO J, RONSTEIN OD. Hypertonicity prevents lipopolysaccharide-stimulated +CD11b/CD18 expression in human neutrophils in vitro: role for p38 inhibition. **J Trauma** 1999;46:794-8.

RIZOLI SB, RHIND SG, SHEK PN, INABA K, FILIPS D, TIEN H, et al. The immunomodulatory effects of hypertonic saline resuscitation in patients sustaining traumatic hemorrhagic shock: a randomized, controlled, double-blinded trial. **Ann Surg** 2006;243:47-57.

ROCHA e SILVA M. Soluções hipertônicas. In: Rocha e Silva M. **Choque**. São Paulo: Atheneu;1996.p.63-84.

RODRIGUES AA, LaMORTE WW, HANRAHAN LM, HOPKINS SR, O'KEANE JC, CACHECHO R, HIRSCH EF. Liver viability after ischemia-reperfusion. **Arch Surg** 1991;126:767-72.

RUBIN B, SMITH A, LIAUW S, ISENMAN D, ROMASCHIN A, WALKER P. Complement activation and white cell activation in postischemia skeletal muscle. **Am J Physiol** 1990;259:525-31.

SCANNELL G, CLARK L, WAXMAN K. Regional flow during experimental hemorrhage and crystalloid resuscitation persistence of low flow to the splenic organs. **Resuscitation** 1992;23:217-25.

SCHLICHTIG R, TONNESSEN TI, NEMETO EM. Detecting dysoxia in "silent organs". In: **Critical Care: State of the art**. Lippincott, Williams & Wilkins; 1993.p.540-73.

SHAH NS, KELLY E, BILLIAR TR, MARSHALL HM, HARBRECHT BG, UDEKWU AO, PEITZMAN AB. Utility of clinical parametes of tissue oxygenation in a quantitative model of irreversible hemorrhagic shock. **Shock** 1998;10:343-6.

TERZI RGG, ALVIM CF, OLIVEIRA WC, MORAES VSC, BATISTA ERN. Avaliação de um lactímetro de bolso no choque hemorrágico experimental. **Rev Bras Terap Intens** 1998;10:42-51.

THAL AP, BROWN EB Jr, HERMERECK AS, BELL HH. Desenvolvimento do conceito. In: Thal, A.P. et al. **Choque: bases fisiológicas para o seu tratamento**. São Paulo, Atheneu, 1977.p.21-39.

TRANBAUGH RF, ELINGS VB, CHRISTENSEN J, LEWIS FR. Determinants interstitial fluid accumulation after trauma. **J Trauma** 1982;22:820-6.

UCHINAMI M, MURAOKA R, HORIUCHI T, TABO T, KIMURA N, NAITO Y, YOSHIKAWA T. Effect of intermittent hepatic pedicle clamping on free radical generation in the rat liver. **Surgery** 1998;124:49-56.

VEDDER NB, FOUTY BW, WINN RK, HARLAN JM, RICE CL. Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. **Surgery** 1989;106:509-16.

VENDER JS. Resolved: a pulmonary artery catheter should be used in the management of the critically ill patients. Pro. **J Cardiothorac Vasc Anesth** 1998;12:9-12.

VIRGILIO RW, SMITH DE, ZARINS CK. Balanced electrolyte solutions experimental and clinical studies. **Crit Care Med** 1979;7:98-106.

VINCENT JL, DuFAYE P, BERRE J, LEEMAN M, DEGAUTE JP, KAHN RJ. Serial lactate determinations during circulatory shock. **Crit Care Med** 1983;11:449-51.

VITEK V & COWLEY RA. Blood lactate in the prognosis of various forms of shock. **Ann Surg** 1971;173:308-13.

VOLLMAR B, MENGER MD, GLASZ J, LEIDERER R, MESSMER K. Impact of leukocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury. **Am J Physiol** 1994;G786-93.

WANG P, HAUPTAMAN JG, CHAUDRY IH. Hemorrhage produces depression in microvascular blood flow which persists despite fluid resuscitation. **Circ Shock** 1990;32:307-18.

WANG M, SAKON M, UMESHITA K, MIYOSHI H, TANIGUCHI K, KISHIMOTO S, et al. Determination of a safe vascular clamping method for liver surgery. **Arch Surg** 1998;133:983-7.

WARD P. Ischemia, reperfusion and organ dysfunction: biochemical and cellular events. **J Vasc Surg** 1993;18:111.

WEIGHT SC, BELL PR, NICHOLSON ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. **Br J Surg** 1996;83:162-70.

WEIHE WH. The laboratory rat. In: Poole TB, Robinson R. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. 6ed. Inglaterra: Longman Scientific & Technical;1987. p309-330.

WILSON M, DAVIS DP, COIMBRA R. Diagnosis and monitoring of hemorrhagic shock during the initial resuscitation of multiple trauma patients: a review. **J Emerg Med** 2003;24:413-22.

YOUNES RN, AUN F, ACCIOLY CQ, CASALE LP, SZAJNBOK I, BIROLINI D. Hypertonic solutions in the treatment of hypovolemic shock: a prospective, randomized study in patients admitted to the emergency room. **Surgery** 2001;111:380-5.

YOUNES RN, BIROLINI D. Hypertonic/hyperoncotic solution in hypovolemic patients: experience in the emergency room. **Rev Hosp Clin** 2002;57:124-8.

YSEBAERT GA, De GREEF KE, VERCAUTEREN SR, GHIELLI M, VERPOOTEN GA, EYSKENS EJ, De BROE ME. Identification and kinetics of leukocytes after severe ischaemia/reperfusion renal injury. **Nephrol Dial Transplant** 2000;15:1562-74.

As referências bibliográficas obedeceram as normas, procedimentos e orientações para publicação de dissertação e teses da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – 2005.



8- ANEXOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

DISCIPLINA DE CIRURGIA DO TRAUMA

LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE CIRURGIA DO TRAUMA – LICIT

ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL APÓS ESTADO DE
CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO COM USO DE DIFERENTES
SOLUÇÕES: EFEITOS NO SEQUESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DO RATO.

PROTOCOLO DE PESQUISA

DATA : __ / __ / __

FICHA N.º :

01 – DADOS DO ANIMAL

Grupo : _____ N.º : _____ Peso: _____ g

Idade: _____ semanas

VE(5.4% peso) 100% VE : _____ ml 40% VE : _____ ml 30% VE : _____ ml
5% VE : _____ ml 2,5% VE : _____ ml

02 – PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Indução

Volume_{A1} : _____ ml Hora_{A1} : ____ : ____ h FR_A : 10' _____ mov./ min. RD:
20' _____ mov./ min
30' _____ mov./ min
40' _____ mov./ min

1- Sol. Anestésica = Ketamina 80 mg/kg + Xilazina 10 mg/kg
--

Oxigênio : 2 l / min.

R_A : _____ °C

Complemento:

Volume _{A2} : _____ ml	Hora _{A2} : ____ : ____ h	FR _A : 10' _____ mov./ min.	RD:
2 - Sol. Anestésica =		20' _____ mov./ min	
		30' _____ mov./ min	
		40' _____ mov./ min	
		FR _A : 10' _____ mov./ min.	RD:
Volume _{A3} : _____ ml	Hora _{A3} : ____ : ____ h	FR _A : 10' _____ mov./ min.	RD:
3 - Sol. Anestésica =		20' _____ mov./ min	
		30' _____ mov./ min	
		40' _____ mov./ min	
		FR _A : 10' _____ mov./ min.	RD:
Volume _{A4} : _____ ml	Hora _{A4} : ____ : ____ h	FR _A : 10' _____ mov./ min.	RD:
4 - Sol. Anestésica =		20' _____ mov./ min	
		30' _____ mov./ min	
		40' _____ mov./ min	
		FR _A : 10' _____ mov./ min.	RD:

03 – SINAIS VITAIS INICIAIS (Hora : ____ : ____)

PAM _{SV} : _____	PVC: _____	DC: _____/_____/_____
FR _{SV} : _____	FC _{SV} : _____	TR _{SV} : _____ °C

Gasometria_{SV}

pH _{SV} : _____	Pco _{2SV} : _____ mmHg	Po _{2SV} : _____ mmHg
Bicarb _{SV} : _____ mmol/l	BE _{SV} : _____ mmol/l	Na ⁺ _{SV} : _____ mEq/l
K ⁺ _{SV} : _____ mEq/l	Ht _{SV} : _____ %	Lactato _{SV} : _____ mmol/l

04 – SANGRIA 15 min (Hora : ____ : ____)

PAM _S 40 mmHg :	FR _{S40} : _____ mov./ min.	FC _{S40} : _____ bpm
TR _{S40} : _____ °C	Volume _{S40} retirado : _____ ml	% VE _{S40} : _____ %

05 – CHOQUE 20 min (Hora : ____ : ____)

PAM : _____	PVC: _____	DC: _____/_____/_____
FR _{SV} : _____	FC _{SV} : _____	TR _{SV} : _____ °C

Gasometria_C

pH _C : _____	Pco _{2C} : _____ mmHg	Po _{2C} : _____ mmHg
Bicarb _C : _____ mmol/l	BE _C : _____ mmol/l	Na ⁺ _C : _____ mEq/l
K ⁺ _C : _____ mEq/l	Ht _C : _____ %	Lactato _C : _____ mmol/l

06 – REPOSIÇÃO 10 min (Hora : ____ : ____)

PAM _R 80 mmHg	FR _R : _____ mov./ min.	FC _R : _____ bpm
--------------------------	------------------------------------	-----------------------------

TR_R : _____ °C

Volumesg: _____ ml

Volumesol: _____ ml

Volume_R : _____ ml

% VE_R : _____ %

07 – **OBSERVAÇÃO** (Hora : ____ : ____)

Monitorização_{RP} 60'

PAM : _____

PVC: _____

DC: _____/_____/_____

FR_{SV} : _____

FC_{SV} : _____

TR_{SV} : _____ °C

Gasometri_{RP}60

pH_{RP60} : _____

P_{CO2}_{RP60} : _____ mmHg

P_{O2}_{RP60} : _____ mmHg

Bicarb_{RP60} : _____ mmol/l

BE_{RP60} : _____ mmol/l

Na⁺_{RP60} : _____ mEq/l

K⁺_{RP60} : _____ mEq/l

Ht_{RP60} : _____ %

Lactato_{RP60} : _____ mmol/l

Volume_{RP60} : _____ ml

% VE_{RP60} : _____ %

Monitorização_{RP} 120'

PAM : _____

PVC: _____

DC: _____/_____/_____

FR_{SV} : _____

FC_{SV} : _____

TR_{SV} : _____ °C

Gasometri_{RP}120

pH_{RP120} : _____

P_{CO2}_{RP120} : _____ mmHg

P_{O2}_{RP120} : _____ mmHg

Bicarb_{RP120} : _____ mmol/l

BE_{RP120} : _____ mmol/l

Na⁺_{RP120} : _____ mEq/l

K⁺_{RP120} : _____ mEq/l

Ht_{RP120} : _____ %

Lactato_{RP120} : _____ mmol/l

Volume_{RP120sg} : _____ ml

Volume_{RP120sol}: _____ ml

Volume_{RP120}: _____ ml

% VE_{RP180} : _____ %

VE - Volemia estimada FR – Frequência respiratória FC – Frequência cardíaca TR – temperatura retal PAM – Pressão arterial média BE – “*Base excess*” = Reserva de base