

# LEZIUNI DE REPERFUZIE POSTHEMORAGICĂ

## REPERFUSION INJURY AFTER HEMORRHAGE

Ana **VIȘNEVSKI**

Doctor în medicină, cercetător științific coordonator, Laboratorul Fiziopatologie, USMF "N. Testemițanu"

### Rezumat

Eficacitatea resuscitării pacienților cu șoc hemoragic poate fi evaluată prin mai multe criterii, inclusiv recuperarea și stabilitatea cardio-vasculară, restabilirea perfuziei organelor precum și durata efectelor hemodinamice. Pacienții cu șoc hemoragic necesită resuscitare optimă și stoparea hemoragiei. Deseori măsurile de reanimare necesare produc o gamă largă de efecte detrimentală asupra organismului. Cercetările efectuate continuă să răspundă la întrebări referitoare la obiectivele măsurabile și fluidele optime utilizate în resuscitare. Elucidarea și înțelegerea căilor metabolice complexe, implicate în prejudiciul de reperfuție reprezintă zonele de interes ale eforturilor actuale de investigații științifice.

### Summary

The efficacy of fluid resuscitation with hemorrhagic shock can be assessed by many criteria including recovery of cardiovascular stability, restoration of organ perfusion, and duration of hemodynamic effects. Patients with hemorrhagic shock require optimal resuscitation and cessation of ongoing bleeding. Often our resuscitative measures, while necessary, cause a wide range of detrimental physiologic effects. Research continues to answer questions regarding measurable endpoints and optimal fluids used in resuscitation. Elucidation and understanding of the complex metabolic pathways involved in reperfusion injury are areas of intense current investigative effort.

### Introducere

Abordarea tradițională a managementului șocului hemoragic este direcționată asupra controlului hemoragiei și restabilirii perfuziei organelor prin administrarea diferitor soluții pentru resuscitare [3, 10, 15]. Date experimentale și clinice contemporane evidențiază diferite efecte adverse induse de soluțiile utilizate în procesul de resuscitare a persoanelor cu șoc hemoragic. Actualmente, studiile clinico-experimentale sunt orientate spre fortificarea instrumentariului remediilor farmacologice utilizat în tratamentul complex al șocului hemoragic pentru modularea diferitor mecanisme patogenetice ale șocului hemoragic [17].

**Scopul** prezentei reviste a literaturii constă în reflectarea aspectelor contemporane referitor la principiile de resuscitare a pacienților cu șoc hemoragic și elucidarea mecanismelor patogenetice lezionale de reperfuție, utilizând informația din literatura de specialitate.

Soluția Ringer lactat (RL) este cea mai disponibilă și frecvent utilizată în resuscitarea șocului hemoragic. Această soluție este necostisitoare și echilibrează rapid compartimentul extracelular, restabilind deficitul de lichide asociat hemoragiei. Administrarea volumelor masive de Ringer lactat rezultă în micșorarea presiunii oncotice în spațiul vascular. Deoarece administrarea cristaloizilor este un fenomen de rutină la resuscitarea pacienților cu șoc hemoragic, unele studii au pus semne de întrebare asupra efectelor acestora asupra răspunsului imun indus de șocul hemoragic [23].

Administrarea soluțiilor coloidale care tind a se menține în compartimentul vascular este susținută pentru tratamentul șocului hemoragic. Deoarece soluțiile coloidale se mențin timp mai îndelungat în spațiul vascular, administrarea acestora în volume mai mici la resuscitarea șocului hemoragic ating stabilitate hemodinamică mai evidențiată comparativ cu soluțiile

cristaloide. Totuși, soluțiile coloidale sunt mai costisitoare, scad nivelul calciului ionizat din serul sanguin și scad nivelul imunoglobulinelor circulante. [18, 20, 22].

Eliminarea soluțiilor coloidale (Dextrani) din organism are loc preponderent prin rinichi, deteriorând funcțiile renale. În cadrul infuziilor de Dextran crește riscul dezvoltării insuficienței renale, datorită precipitației moleculelor mici în sistemul reticuloendotelial cu afectarea aparatului glomerular până la dezvoltarea perioadei de anurie. În condițiile creșterii marcante a permeabilității vasculare, moleculele cu masă moleculară mare extravazează în sectorul extravascular provocând expansiunea edemului interstițial. În condițiile hipovolemiei, presiunea hidrostatică din capilarele glomerulare scade, respectiv infuzia soluțiilor coloidale sporesc semnificativ presiunea oncotică, contribuind la diminuarea filtrației glomerulare. Acest mecanism al insuficienței renale poate fi diminuat prin administrarea concomitentă și a soluțiilor cristaloide cu scopul refacerii presiunii de perfuzie [22].

Unele studii demonstrează că dextranii cu masă moleculară mare administrați în doze mari interferează sistemul sanguin de coagulare, fenomen cu importanță deosebită în cadrul hemoragiilor. Dextranii inhibă proprietățile adezive ale plachetelor prin asocierea cu factorul von Willebrand și cu alți factori de coagulare (II, V, VII), creând astfel condiții favorabile pentru instalarea sindromului hemoragic. În plus, preparatele coloidale sintetice potențează sistemul fibrinolitic prin creșterea ponderii activatorului plasminogenului și a alfa<sub>2</sub>-antiplasminei.

O complicație severă indusă de infuzia preparatelor coloidale este posibilitatea dezvoltării reacțiilor alergice la unele substanțe coloidale sintetice așa ca dextranii. Aceste reacții sunt asociate cu anticorpii dextranici, care se crede că ar fi prezenți la majoritatea populației umane în cantități mici. Este demonstrat că cele mai severe reacții alergice induse de

dextrani au fost observate la persoanele care prezentau un titru crescut de anticorpi dextranici. În general, pentru a provoca dezvoltarea reacțiilor alergice este necesară administrarea unui volum neînsemnat de dextran și de obicei reacția se dezvoltă în primele minute după infuzie. Cazuri mai frecvente de reacții alergice au fost apreciate la administrarea dextranilor cu masa moleculară > 100,000 comparativ cu reacțiile alergice dezvoltate la administrarea dextranilor de ultima generație. În general, dezvoltarea reacțiilor alergice la administrarea dextranilor cu masa moleculară de 75,000 ori mai mică este un fenomen destul de rară cu o incidență de 0.013%- 0.024%. Majoritatea cazurilor de reacții alergice au fost observate la administrarea dextranilor la persoanele în etate. Comparativ cu alte substanțe coloide, utilizate în resuscitarea șocului hemoragic, incidența reacțiilor alergice induse de dextrani este de 2 ori mai mică comparativ cu albumina și de 6 ori mai redusă comparativ cu gelatina [25].

Studii clinice și experimentale au demonstrat eficacitatea administrării volumelor mici de soluții hipertonică (5ml/kg NaCl 7,5%) în procesul de resuscitare prespitalicească a șocului hemoragic. Soluțiile hipertonică administrate în volume mici ameliorează microcirculația, stabilizează presiunea arterială și debitul cardiac și nu afectează funcțiile sistemului imun. Soluțiile hipertonică previn răspunsul inflamator la pacienții traumatizați prin blocarea activării monocitelor și neutrofilelor. Expunerea neutrofilelor acțiunii soluțiilor hipertonică produce o creștere a nivelului intracelular de AMP ciclic care interferează cu mecanismele de activare a neutrofilelor. În cadrul șocului hemoragic experimental s-a apreciat o reducere a nivelului de citokine proinflamatoare (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  și IL-2) la administrarea soluțiilor hipertonică saline. Afectarea microcirculației în șocul hemoragic se datorează cu predilecție edemului endotelocitelor în detrimentul menținerii unui calibru adecvat perfuziei. Soluțiile hipertonică saline prin formarea unui gradient osmotic facilitează eliberarea lichidului din celulele endoteliale restabilind lumenul vascular [4, 5, 6].

Hipoxia este unul din factorii patogenetici de bază a leziunilor celulare, atât în perioada hemoragiei, cât și în perioada de resuscitare datorită micșorării presiunii parțiale a oxigenului în sânge. În acest context este importantă efectuarea hemotransfuziei, care este o măsură obligatorie în cadrul hemoragiilor masive. Hemotransfuziile sunt asociate atât cu efecte pozitive (crește capacitatea oxigenică a sângelui) cât și cu efecte adverse așa ca șocul hemolitic postransfuzional, impactul infecțios, șocul anafilactic și tulburări reologice [10, 16, 19]. O altă modalitate de redresare a capacității oxigenice a sângelui în cadrul șocului hemoragic este utilizarea substituenților sanguini care nu necesită condiții speciale de păstrare și nu posedă reacțiile adverse menționate. Substituenții sanguini transportori de oxigen pot fi divizați în două tipuri: produse pe bază de hemoglobină și substituenți pe bază de fluorocarbon. Emulsiile pe bază de fluorocarbon sunt ușor de produs, au o perioadă de valabilitate lungă și posedă efecte imunogene minime. Substituenții sanguini pe bază de hemoglobină posedă capacitate oxigenică notabil mai mare și un apreciabil efect oncotic. Dezavantajele includ perioada scurtă de semiviață, probabilitatea de toxicitate renală, hipertensiune pulmonară și efecte imunogene.

Dezvoltarea leziunilor de reperfuție începe odată cu perioada de reoxigenare a țesuturilor ischemiate. Indiferent de

cauza hipoxiei, endoteliul vascular pare a fi veriga principală a patogeniei leziunilor de reperfuție. Celulele endoteliale sunt foarte sensibile față de hipoxie, manifestând modificări caracterizate prin creșterea volumului, dereglări ale citoscheletului, micșorarea fluidității membranare, micșorarea aderenței față de membrana bazală și față de leucocitele activate.

Leziunile endoteliale sunt localizate pe tot traseul patului vascular, în special la nivelul arteriolelor, capilarelor și venulelor. Leziunile venulelor în perioada de reperfuție se manifestă prin agregare leucocitară-plachetară, adeziunea endotelială a leucocitelor, migrarea transendotelială și creșterea producerii oxidanților [11].

În procesul de adeziune la endoteliul vascular și facilitarea extravazării ulterioare leucocitele utilizează diferite proteine de adeziune. Toate 3 tipuri de selectine (endotelială-E, plachetară-P și leucocitară-L) sunt implicate în diverse aspecte ale leziunilor de reperfuție. Moleculele de adeziune intercelulară (ICAM-1) sunt expresate de către endoteliul lezat și expresia acestora este stimulată de către TNF $\alpha$  și IL-1 $\alpha$ . ICAM-1 se leagă de integrine-dimer care este prezent pe suprafața neutrofilelor, format din 2 monomeri: CD18 și CD11. CD11 include 3 subtipuri – CD11a, CD11b și CD11c, unul din acești monomeri este expresat împreună cu CD18 formând un complex pentru legarea ICAM-1 [11, 13]. Complexul CD11/CD18 este necesar pentru adeziunea neutrofilelor la endoteliu, migrarea transendotelială a neutrofilelor și pentru sinteza H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de către neutrofilele aderate. De asemenea, complexul CD11/CD18 servește ca receptor pentru fragmentul C3bi al complementului care mediază procesul de fagocitoză al neutrofilelor și macrofagelor. Studii experimentale au demonstrat o reducere a procesului de extravazare a neutrofilelor prin blocarea CD18 cu anticorpi monoclonali, fapt ce poate servi ca bază teoretică pentru optimizarea tratamentului persoanelor cu șoc hemoragic și alte stări ischemice [9, 14].

La pacienții cu șoc hemoragic în perioada de resuscitare livrarea adecvată de oxigen către țesuturi nu este însoțită de creșterea utilizării acestuia. Incapacitatea mitocondriilor de a utiliza oxigenul este denumită ca „hipoxie citopatică”. Leziunile de reperfuție diminuează abilitatea mitocondriilor de a forma adenozin trifosfat în procesul de fosforilare oxidativă. Citocromul *c* oxidaza contribuie la dezvoltarea leziunilor de reperfuție prin creșterea producerii speciilor reactive de oxigen în mitocondrii. Excesul de oxidanți pot modula vulnerabilitatea celulelor față de răspunsul inflamator în stările de șoc. Este cunoscut faptul că modificarea statutului redox activează factorul nuclear kappa-B, rezultând producerea de TNF- $\alpha$  [12].

Leziunile hepatice de reperfuție reprezintă o complicație majoră, dezvoltată în cadrul hemoragiilor masive, rejecțiilor hepatice și în cadrul transplantului de ficat. Aceste leziuni au loc în cadrul micșorării perfuziei parenchimului hepatic pe o perioadă de timp, urmată de reperfuție. Aceste fenomene rezultă în inducerea răspunsului inflamator acut care poate duce la dezvoltarea leziunilor tisulare semnificative.

Prima fază se dezvoltă pe o durată de câteva ore de la reperfuție și reprezintă un răspuns mediat de celulele Kupffer, augmentat de activarea sistemului complement. Celulele Kupffer produc specii reactive de oxigen care induc stresul oxidativ și provoacă leziuni celulare a populațiilor de hepatocite [6]. Această fază este asociată cu leziuni hepatocelulare modeste marcate prin creșterea moderată a nivelului transaminazelor în

serul sanguin dar cu păstrarea arhitectonicii hepatice. În pofida leziunilor hepatice ne semnificative dezvoltate în această fază, stresul oxidativ induce eliberarea citokinelor proinflamatoare care inițiază și propagă un răspuns inflamator secundar. Una din cele mai proximale citokine este IL-12, care prezintă nivel sporit în perioada de ischemie și în perioada precoce a reperfuziei. Deși sursa celulară precisă a IL-12 rămâne necunoscută, neutralizarea IL-12 prin administrarea anticorpilor rezultă în scăderea producerii TNF- $\alpha$  cu diminuarea ulterioară a procesului inflamator. Deși TNF- $\alpha$  prezintă factorul primar care induce răspunsul inflamator în ficat, IL-1 expresată după TNF- $\alpha$  ar putea avea un rol suplimentar în procesul de recrutare a neutrofilelor [2]. Expresia acestor citokine proinflamatoare este mediată de activarea factorilor de transcripție care includ HIF-1 și NF- $\kappa$ B. Studii experimentale au demonstrat o asociație dintre HIF-1 și producerea citokinelor de către celule Kupffer. În această manieră, faza leziunilor precoce dă naștere fazei leziunilor inflamatorii tardive.

Faza secundară a leziunilor de reperfuzie a ficatului se caracterizează prin recrutarea și activarea neutrofilelor în parenchimul hepatic. Rolul principal în procesul de acumulare a neutrofilelor este atribuit TNF- $\alpha$ , care induce sinteza chemoatranților, în special al chemokinelor de către macrofagi rezidenți din ficat. În plus, TNF- $\alpha$  stimulează celulele endoteliale ale microvaselor hepatice pentru a crește expresia moleculelor de adeziune [9]. Neutrofilele, care aderă la endoteliul vascular, sunt activate de către chemokinele expresate în focarul de leziune. Neutrofilele acumulate în parenchimul hepatic produc leziuni celulare prin intermediul elaborării speciilor reactive de oxigen așa ca anionul superoxid și radicalul hidroxil care provoacă moartea hepatocitelor. În plus, proteazele eliberate (colagenaza, elastaza, catepsina G și heparinaza) din granulele neutrofilelor provoacă de asemenea leziuni ale hepatocitelor. Studii recente sugerează că și T-limfocitele de asemenea joacă un rol important în producerea leziunilor de reperfuzie hepatice. Limfocitele rezidente din ficat convențional includ kilerii naturali (NK) și gamadelta T-limfocitele. Aceste limfocite pot amplifica procesul inflamator prin secreția de mediatori solubili așa ca citokinele și chemokinele. Expresia acestor mediatori ulterior pot rezulta în recrutarea unui număr mai mare de neutrofile și limfocite în parenchimul hepatic. Leziunile hepatice rezultante, histologic se caracterizează prin focare de necroză și biochimic prin nivelul crescut al transaminazelor în serul sanguin [6].

Pe durata perioadei de ischemie, depleția energetică interferează cu transportul activ transmembranar, producând edemul celulelor endoteliale și a celulelor Kupffer [1]. Dereglarea echilibrului dintre monoxidul de azot și endoteline induce vasoconstricție și îngustarea lumenului sinusoidal, compromițând fluxul leucocitar cu creșterea timpului de contact dintre leucocite și peretele vascular. Creșterea timpului de contact dintre neutrofile și celulele endoteliale contribuie la adeziunea neutrofilelor care reduc fluxul sanguin în capilarele sinusoidale. Agregarea plachetară din lumenul sinusoidelor hepatice de asemenea agravează fluxul sanguin.

În perioada inițială a leziunilor hepatice mediate de reperfuzie scade nivelul de NO și crește nivelul de endoteline ceea ce favorizează vasoconstricția vaselor microcirculatorii.

Ischemia reduce nivelul NADPH și oxigen și induce sinteza arginazei, producând o reducere semnificativă a nivelului de NO cu o creștere a procesului de degradare a precursorului L-arginina [8].

Agregarea plachetară din lumenul sinusoidelor hepatice nu numai că dereglează fluxul sanguin dar și amplifică procesul de apoptoză a celulelor endoteliale în perioada de reperfuzie. Plachetele produc monoxid de azot care ulterior poate fi transformat în peroxinitrit- inductor potent al apoptozei celulelor endoteliale. Un rol deosebit în dezvoltarea leziunilor de reperfuzie este atribuit nivelului ionilor de calciu și nivelului de adenzină. Ionii de calciu sunt esențiali în procesul de activare a fosfolipazelor, proteazelor și nucleazelor și dețin un rol important în dereglarea procesului de fosforilare oxidativă, cu reducerea ulterioară a nivelului de ATP. Adenzina este un nucleozid purinic eliberat la scindarea enzimatică a ATP-ului, adenzindifosfatului și adenzin 5- monofosfatului. Adenzina posedă efecte protective în cadrul ischemiei prin inhibiția agregării plachetare, scăderea producerii de endoteline și a speciilor reactive de oxigen. Pe durata perioadei de reperfuzie adenzina și inozina eliberate din ficat interacționează cu receptorii adenzinici A<sub>3</sub>, stimulând glicogenoliza pentru menținerea homeostaziei glucozei în organism [21].

Leziunile de reperfuzie a organelor pot fi amplificate prin utilizarea unor strategii agresive de resuscitare. În cazul administrării volumelor mari de lichide are loc tulburarea echilibrului osmotic a sectorului intra- și extracelular. Inițial scade osmolaritatea lichidului din spațiul extracelular, cu translocarea ulterioară a lichidului în spațiul celular și dezvoltarea edemului celular. Edemul celular rezultă în acidificarea citoplasmei, diluția proteinelor celulare și inactivarea protein kinazelor cu dereglarea procesului de fosforilare – mecanism vital în semnalizarea intracelulară. Ca rezultat, numeroase funcții celulare sunt perturbate, inclusiv funcțiile hepatocitelor, miocitelor cardiace și a celulele  $\beta$ -pancreatice. Edemul celular întrerupe mecanismele reglatorii responsabile pentru menținerea cascadei inflamatoare sub control. În cadrul creșterii volumului celular are loc activarea fosfolipazei A2 care rezultă în creșterea sintezei de prostoglandine și leucotriene. Creșterea acută a volumului celular de asemenea rezultă în producerea și eliberarea de către macrofage a TNF- $\alpha$ . Edemul neuronal provoacă acidificarea veziculelor sinaptice cu dereglarea procesului de eliberare și recaptare a mediatorilor [21, 24].

## Concluzii

Actualmente managementul șocului hemoragic din cadrul traumelor se realizează prin administrarea intravenoasă viguroasă de soluții cristaloide și coloide. Se realizează studii clinice și experimentale în vederea fortificării tratamentului „convențional” și implimentarea metodelor alternative de tratament patogenetic.

Leziunile de reperfuzie reprezintă un proces dinamic, care implică multiple organe și sisteme. Investigațiile experimentale și clinice au identificat mecanismele moleculare-cheie care mediază, modulează și augmentează leziunile celulare în cadrul acestui proces. În plus, elucidarea mecanismelor moleculare a leziunilor de reperfuzie ar permite de a identifica opțiuni terapeutice care ar preveni sau ameliora leziunile organelor.

---

## Bibliografie

1. AGANI F. H., PICHIULE P., CHAVEZ J. C. and LAMANNA J. C. *The role of mitochondria in the regulation of hypoxia-inducible factor 1 expression during hypoxia.* J Biol Chem. 2000; 275: 35863-35867.
  2. ARUMUGAM THIRUMA V., EITAN OKUN, SUNG-CHUN TANG, JOHN THUNDYIL. *Toll-like receptors in ischemia-reperfusion injury.* Shock. 2009; 32 (1): 4-16.
  3. BAGSHAW S. M., BELLOMO R. *The influence of volume management on outcome.* Curr Opin Crit Care; 2007; 13; 541-548.
  4. BRASEL K. J., BULGER E., COOK A. J. et al. *Resuscitation Outcomes Consortium Investigators: Hypertonic resuscitation: design and implementation of a prehospital intervention trial.* J Am Coll Surg; 2008; 206; 220-232.
  5. BULGER E. M., CUSCHIERI J., WARNER K., MAIER R. V. *Hypertonic resuscitation modulates the inflammatory response in patients with traumatic hemorrhagic shock.* Ann Surg; 2007; 245;635-41.
  6. CARDEN D. L., GRANGER D. N. *Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury.* In: J Pathol. 2000, vol. 190, p. 255-66.
  7. CHOI P. T., YIP G., QUINONEZ L. G., COOK D. J. *Crystalloids vs. colloids in fluid resuscitation: a systematic review.* Crit Care Med; 1999; 27; 200-210.
  8. COLLINS J. L., VODOVOTZY, HIERHOLZER C., VILLAVICENCIO R. T., LIU S., ALBER S. *Characterization of the expression of inducible nitric oxide synthase in rat and human liver during hemorrhagic shock.* Shock; 2003; 19 (2);117-122.
  9. COTTON B. A., GUY J. S., MORRIS J. A. Jr, ABUMRAD N. N. *The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies.* Shock; 2006; 26;115-121.
  10. DEVASHISH J. ANJARIA, ALICIA M. MOHR. *Haemorrhagic shock therapy.* Expert Opin. Pharmacother; 2008; 9(6); 901-911.
  11. DUDA M., CZARNOWSKA E., KURZELEWSKI M. et al. *Ischemic preconditioning prevents endothelial dysfunction, P-selectin expression, and neutrophil adhesion by preventing endothelin and O<sub>2</sub>-generation in the post-ischemic guinea-pig heart.* J Physiol Pharmacol; 2006; 57; 553-569.
  12. FAN J., LI Y., VODOVOTZY. et al. *Neutrophil NAD(P)H oxidase is required for hemorrhagic shock-enhanced TLR2 up-regulation macrophages in response to LPS.* Shock; 2007; 28; 213-218.
  13. FIUZA C., BUSTIN M., TALWAR S. et al. *Inflammation-promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells.* Blood; 2003; 101; 2652-60.
  14. FLOHE S., LENDEMANS S., SELBACH C. *Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on the immune response of circulating monocytes after severe trauma.* Crit Care Med; 2003; 2462-2469.
  15. FRY D. E. *Future directions in the treatment of SIRS and MODS.* In: Baue AE, Faist E, Fry DE, editors. Multiple organ failure. New York: Springer-Verlag; 2000; 678-88.
  16. KLEIN H. G., SPAHN D. R., CARSON J. L. *Red blood cell transfusion in clinical practice.* Lancet. 2007; 370; 415-426.
  17. MD MATTHEW REVELL, MD IAN GREAVES and KEITH PORTER. *Endpoints for Fluid Resuscitation in Hemorrhagic Shock.* J Trauma; 2003; 54; S63-S67.
  18. MICHAEL A. DUBICK, STEPHEN P. BRUTTIG. *Issues of regarding the use of hypertonic/hyperoncotic fluid resuscitation of hemorrhagic shock.* Shock; 2006; 25 (4); 321-328.
  19. NAPOLITANO L. *Cumulative risks of early red blood cell transfusion.* J Trauma; 2006; 60; S26-S34.
  20. NASCIMENTO P. JR., DE PAIVA F. O., DE CARVALHO L. R., BRAZ Jr. *Early hemodynamic and renal effects of hemorrhagic shock resuscitation with lactated Ringer's solution, hydroxyethyl starch, and hypertonic saline with or without 6% dextran-70.* J Surg Res; 2006;136; 98-105.
  21. OTANI H. *Ischemic preconditioning: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities.* Antioxid Redox Signal; 2008; 10; 207-247.
  22. RIZOLI S. B. *Crystalloids and colloids in trauma resuscitation: a brief overview of the current debate.* J Trauma; 2003; 54; S82-S88.
  23. SPAHN D. R., CERNY V., COATST. J., DURANTEAU J. *Task Force for Advanced Bleeding Care in Trauma: Management of bleeding following major trauma: a European guideline.* Crit Care; 2007; 11; R17.
  24. VANLANGENAKKER N., BERGHE T. V., KRYSKO D. V., FESTJENS N., VANDENABEELE P. *Molecular mechanisms and pathophysiology of necrotic cell death.* Curr Mol Med; 2008; 8; 207-220.
  25. WADE C. E., GRADY G. G., KRAMER G. C. *Efficacy of hypertonic saline dextran fluid resuscitation for patient with hypotension from penetrating trauma.* J Trauma; 2003; 54; S144 -148.
-