

Experimental Model of Non-Controlled Hemorrhagic Shock in Pigs

Fernanda Paula Cavalcante ¹, Ricardo Souza Nani, TSA ², Joel Avancini Rocha Filho ³,
José Otávio Costa Auler Junior ⁴, Maria José Carvalho Carmona ⁵, Marcel Cerqueira Cesar Machado ⁶

Summary: Cavalcante FP, Nani RS, Rocha Filho JA, Auler Junior JOC, Carmona MJC, Machado MCC – Experimental Model of Non-Controlled Hemorrhagic Shock in Pigs.

Background and objectives: A better understanding of pathophysiologic changes associated to trauma and hemorrhagic shock can help the development of therapies capable of reducing trauma-related mortality. The objective of this study was to describe a model of non-controlled hemorrhagic shock in pigs.

Methods: Animals received ketamine and midazolam as pre-anesthetic medications. Anesthesia was induced with propofol, and tracheal intubation was performed with the animals on spontaneous ventilation. After intubation neuromuscular blockade was performed. Animals were maintained in controlled mechanical ventilation and normocapnia. Anesthesia was maintained with propofol and fentanyl as needed. Saline was infused during the entire preparation period.

Monitoring: Cardioscope, pulse oximeter, invasive blood pressure, volumetric catheter in the pulmonary artery, and urine output by cystostomy were used. Experimental model: after the initial recording of hemodynamic, metabolic, and coagulation variables, right subcostal incision and left lobe liver biopsy were performed. Anesthetic infusion was reduced while the infusion of saline was interrupted. An incision 12 cm long 2 cm deep was performed in the right liver lobe followed by digital division of the wound. During the hemorrhagic phase, an aspiration probe was placed close to the wound and the volume of aspirated blood was recorded. When mean arterial pressure reached 40 mmHg and bleeding was above 700 mL the intervention phase was initiated according to the type of study.

Conclusion: The development of experimental models to reduce high mortality and costs related to trauma is important.

Keywords: Abdomen; Wounds and Injuries; Shock, Hemorrhagic; Models, Animal.

©2011 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença de [CC BY-NC-ND](#)

INTRODUCTION

According to IBGE data, external mortality-related causes are the third cause of general mortality in Brazil behind only of deaths from cardiovascular causes and malignant neoplasia. It is the main cause of death of individuals of both genders with ages from 1 to 44 years. In the United States, trauma-related costs are comparable to the costs associated with malignant neoplasia, reaching US\$ 44 billion in 1997 ¹.

The association of trauma, hemorrhage, hemorrhagic shock, organ ischemia, volume resuscitation, and reperfusion lesions causes local and systemic alterations. Even those

who survive the initial phase of hemorrhagic shock still have a risk of death from sepsis and/or multiple organ dysfunction ^{1,2}. Better understanding of trauma and hemorrhagic shock-related pathophysiology and immunologic changes can help the development of new therapies capable of reducing trauma-related mortality and costs ^{1,2}.

Several experimental models have been developed in the last few decades in an attempt to investigate the pathophysiology of hemorrhagic shock and to validate new therapies ¹⁻³. Even consisting in its majority in models that are difficult to reproduce in laboratory that also do not reproduce real clinical scenery, experimental models have the advantage of producing information about well-defined situations that can be useful in the development of new therapies to reduce trauma-related mortality ¹⁻³.

The objective of the present study was to describe a non-controlled hemorrhagic shock model in pigs, developed to investigate strategies of volume replacement in pre-hospital environment.

METHODS

After approval by the Ethics Commission for Analysis of Research Studies (CAPPesq HCFMUSP), the experimental

Received from Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), Brazil.

1. R3 CET/SBA, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP)
2. Assistant Physician of Anesthesiology Division of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP;
3. PhD; Assistant Physician of Anesthesiology Division of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
4. PhD; Full Professor of Anesthesiology of Faculdade de Medicina da USP
5. PhD; Associate Professor of Anesthesiology of Faculdade de Medicina da USP
6. PhD; Professor Emeritus of Faculdade de Medicina da USP

Submitted on January 4, 2011.
Approved on February 21, 2011.

Correspondence to:
Dra. Fernanda Paula Cavalcante
Av. Sen. Virgílio Távora, 77 Apt 803
60170250 – Fortaleza, CE, Brazil
E-mail: cavalcantefp@yahoo.com.br

mode was developed with 32 healthy adult swine of the Penarian race weighing 25 to 35 kg at the Laboratório de Investigação Médica of the Disciplina de Cirurgia e Transplante de Fígado and at the Laboratório of the Disciplina de Anestesiologia of Faculdade de Medicina of Universidade de São Paulo. Qualified personnel supervised by veterinarians were responsible for the caring of animals according to current recommendations. At the end of the study, the animals were discarded according to the rules of the sanitary vigilance. On the night before the experiment, animals did not have access to solid foods, but access to water was maintained.

Experimental protocol

Anesthesia

Animals received ketamine (0.5 mg.kg⁻¹ IM) and midazolam (0.1 mg.kg⁻¹ IM) 30 minutes before the surgery as pre-anesthetic medication. Body temperature was maintained above 38 °C with a thermal blanket throughout the procedure. After catheterizing the left auricular vein with a 20G Teflon® catheter, anesthesia was induced with propofol (1-2 mg.kg⁻¹ EV), and tracheal intubation was performed while animals were breathing spontaneously. After tracheal intubation, neuromuscular blockade was performed with 8 mg of pancuronium. Animals were maintained on controlled mechanical respiration (Servo Siemens 900C) with FiO₂ of 35%, respiratory rate 20 breaths per minute, and tidal volume adjusted to maintain normocapnia. Anesthesia was maintained with propofol (100-140 µg.kg⁻¹.min⁻¹) and fentanyl (5 µg.kg⁻¹) as needed. Saline was infused IV (6 mL.kg⁻¹.h⁻¹) throughout the preparation period.

Monitoring

Cardioscope on three derivations, though analyzed on D2, and pulse oximetry were used in non-invasive monitoring during the procedure.

Invasive monitoring was accomplished with a volumetric pulmonary catheter installed by right cervical vein dissection for continuous monitoring of pulmonary artery oxygen saturation. A 5F arterial catheter installed by arterial dissection of the left inguinal artery was used for continuous measurement of invasive blood pressure. A 14G venous catheter for volume replacement, and a #12 vesical catheter, by cystostomy, to measure urine output were also placed.

Experimental model

This is a non-controlled hemorrhagic shock model.

After initial recording of hemodynamic, metabolic, and coagulation variables, a right subcostal abdominal incision and a left lobe hepatic biopsy were performed.

Propofol infusion was reduced to 33 µg.kg⁻¹.min⁻¹, while isotonic saline infusion was interrupted to minimize the anesthetic and volume replacement effects.

An incision 12 cm long and 2 cm deep was performed in the right liver lobe, followed by digital divulsion of the wound. In the hemorrhagic phase an aspiration tube was placed close to the hepatic incision and the volume of blood aspirated was recorded.

When mean arterial pressure reached 40 mmHg and/or bleeding was higher than 700 mL, it was possible to initiate the proposed intervention phase according to the objective of the study.

Variables analyzed

Through this experimental model it was possible to analyze hemodynamic variables such as pressures, indexes, and vascular resistances. Oxygenation and metabolism data, such as arterial and venous blood gases, lactate, and glucose levels, as well as coagulation data, such as d-dimer, prothrombin time, thrombin time, partial thromboplastin time, thrombomodulin, C protein, fibrinogen, platelet count, and thromboelastometry, were analyzed. Urine output and bleeding volume were quantified.

CONCLUSIONS

Due to the great variety of available experimental models, the difficulty to reproduce the models in laboratories, and the inevitable questioning on its clinical applicability, investigators should carefully choose the best model possible according to their objective. An experimental model for trauma and hemorrhagic shock capable of answering all questions on the subject is not available³. Producing an ideal model capable of simulating real clinical situations and to elucidate therapeutic strategies applicable to daily medical practice is difficult. Each investigator should use and perfect the model that shows more adaptation to his objective². When choosing the experimental model the definition of the adequate animal, among other things, is important. In general, rats are better for biochemical studies, while others are better adapted to studies on hemodynamic changes². Variations in the response to trauma and the therapy among the different species should be taken into consideration when extrapolating the results to clinical practice.

Even with the difficulty of transposing experimental results to clinical practice, it is important to continue the development of experimental studies on hemorrhagic shock, since the conclusions of these studies are relevant and certainly can improve clinical pre-hospital and hospital performance to reduce the high mortality rates and costs associated to trauma.

Modelo Experimental de Choque Hemorrágico Não Controlado em Porcos

Fernanda Paula Cavalcante ¹, Ricardo Souza Nani, TSA ², Joel Avancini Rocha Filho ³,
José Otávio Costa Auler Junior ⁴, Maria José Carvalho Carmona ⁵, Marcel Cerqueira Cesar Machado ⁶

Resumo: Cavalcante FP, Nani RS, Rocha Filho JA, Auler Junior JOC, Carmona MJC, Machado MCC – Modelo Experimental de Choque Hemorrágico Não Controlado em Porcos.

Justificativa e objetivos: Uma compreensão melhor das alterações fisiopatológicas associadas ao trauma e ao choque hemorrágico pode ajudar no desenvolvimento de terapêuticas capazes de reduzir a mortalidade relacionada ao trauma. O objetivo deste estudo é descrever um modelo de choque hemorrágico não controlado em porcos.

Métodos: Como medicação pré-anestésica, os animais receberam cetamina e midazolam. A anestesia foi induzida com propofol e a intubação traqueal foi realizada na vigência de respiração espontânea. Após a intubação, realizou-se bloqueio neuromuscular. Os animais foram mantidos em respiração mecânica controlada e normocapnia. A anestesia foi mantida com propofol e fentanil, de acordo com a necessidade. Solução de soro fisiológico 0,9% foi infundida em todo o período de preparação.

Monitoração: Foram utilizados cardioscópio, oxímetro de pulso, medida de pressão arterial invasiva, cateter volumétrico de artéria pulmonar e medida de débito urinário por cistostomia. Modelo experimental: após registro inicial de variáveis hemodinâmicas, metabólicas e de coagulação, realizaram-se incisão subcostal direita e biópsia hepática do lobo esquerdo. A infusão de anestésicos foi reduzida, enquanto a de solução de salina isotônica interrompida. Uma incisão de 12 cm de extensão por 2 cm de profundidade foi feita no lobo hepático direito, seguida de divisão digital do ferimento. Durante a fase de hemorragia, uma sonda de aspiração foi posicionada junto ao ferimento e o volume de sangue aspirado foi registrado. Quando a pressão arterial média chegou a 40 mmHg e o sangramento foi superior a 700 mL, pôde ser iniciada a fase de intervenção de acordo com o tipo de estudo.

Conclusão: É importante continuar o desenvolvimento de modelos experimentais com o objetivo final de reduzir a alta mortalidade e os custos associados ao trauma.

Unitermos: ANIMAL, Porco; CIRURGIA, Trauma; COMPLICAÇÕES, Choque.

©2011 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença de CC BY-NC-ND

INTRODUÇÃO

Segundo dados do IBGE, a mortalidade relacionada a causas externas é a terceira principal causa de mortalidade geral no Brasil, ficando atrás apenas das mortes relacionadas a doenças do aparelho circulatório e neoplasias malignas. É ainda a principal causa de morte entre os indivíduos de 1 a 44 anos

de ambos os sexos. Os custos associados ao trauma são comparáveis aos custos associados a neoplasias malignas nos Estados Unidos, chegando à cifra de US\$ 44 bilhões em 1997, naquele país ¹.

A associação entre trauma, hemorragia, choque hemorrágico, isquemia orgânica, ressuscitação volêmica e lesões de reperfusão provoca alterações locais e sistêmicas na vítima. Mesmo aquelas que sobrevivem à fase inicial do choque hemorrágico continuam com risco de morte por sepse e/ou disfunção orgânica múltipla ^{1,2}. Melhor compreensão das alterações patofisiológicas e imunológicas relacionadas ao trauma e ao choque hemorrágico pode ajudar no desenvolvimento de novas terapêuticas capazes de reduzir a alta mortalidade e os custos relacionados a traumas ^{1,2}.

Vários modelos experimentais foram desenvolvidos nas últimas décadas na tentativa de se investigar a fisiopatologia do choque hemorrágico e de validar novas terapêuticas ¹⁻³. Mesmo consistindo, majoritariamente, em modelos difíceis de reprodução em laboratórios e também não reproduzindo, necessariamente de forma fiel, cenários clínicos reais, os modelos experimentais têm a vantagem de produzir informações sobre situações bem definidas que podem ser úteis no desenvolvimento de novas terapêuticas que visem à redução da mortalidade relacionada ao trauma ¹⁻³.

Recebido pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), Brasil.

1. ME3 CET/SBA, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP)

2. Médico-Assistente da Divisão de Anestesiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP;

3. PhD; Médico-Assistente da Divisão de Anestesiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

4. PhD; Professor Titular da Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina da USP

5. PhD; Professora Associada da Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina da USP

6. PhD; Professor Emérito da Faculdade de Medicina da USP

Submetido em 4 de janeiro de 2011.

Aprovado para publicação em 21 de fevereiro de 2011.

Correspondência para:

Dra. Fernanda Paula Cavalcante

Av. Sen. Virgílio Távora, 77 Apt 803

60170250 – Fortaleza, CE, Brasil

E-mail: cavalcantefp@yahoo.com.br

O objetivo deste trabalho é descrever um modelo de choque hemorrágico não controlado em porcos, desenvolvido para se investigarem estratégias de reposição volêmica no ambiente pré-hospitalar.

MÉTODOS

Após aprovação pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq HCFMUSP), o modelo foi desenvolvido utilizando-se 32 suínos adultos saudáveis, do sexo masculino, da raça Penarlan, com peso de 25 a 35 kg, no Laboratório de Investigação Médica da Disciplina de Cirurgia e Transplante do Fígado e no Laboratório da Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O cuidado com os animais foi feito por pessoas qualificadas e supervisionado por veterinários, segundo as recomendações atuais. Ao final do estudo os animais foram descartados conforme as normas de vigilância sanitária. Não houve acesso a alimentos sólidos na noite anterior ao experimento, mas foi mantido acesso à água.

Protocolo Experimental

Anestesia

Como medicação pré-anestésica os animais receberam cetamina (0,5 mg.kg⁻¹ IM) e midazolam (0,1 mg.kg⁻¹ IM) 30 minutos antes da cirurgia. A temperatura corpórea foi mantida acima de 38 °C durante o procedimento com o auxílio de manta térmica. Após cateterização de veia auricular esquerda com cateter de Teflon® calibre 20 Gauge, a anestesia foi induzida com propofol (1-2 mg.kg⁻¹ EV) e a intubação traqueal foi realizada na vigência de respiração espontânea. Após a intubação traqueal, realizou-se bloqueio neuromuscular com pancurônio 8 mg. Os animais foram mantidos sob ventilação controlada mecânica (Servo Siemens 900C) com FiO₂ de 35%, frequência respiratória de 20 incursões por minuto e volume corrente ajustado para a manutenção da normocapnia. A anestesia foi mantida com propofol (100-140 µg.kg⁻¹.min⁻¹) e fentanil 5 µg.kg⁻¹, de acordo com a necessidade. Solução de soro fisiológico 0,9% foi infundida EV (6 mL.kg⁻¹.h⁻¹) durante todo o período de preparação.

Monitoração

A monitoração não invasiva foi realizada com cardioscópio de três derivações, sendo analisada a derivação D2 durante o procedimento e também com oximetria de pulso.

A monitoração invasiva foi realizada com cateter de artéria pulmonar volumétrico instalado por venodissecação cervical direita para leitura contínua da saturação de oxigênio da artéria pulmonar. Foi utilizado cateter arterial 5 F instalado por arteriodissecação inguinal esquerda para medir, de forma contínua, a pressão arterial invasiva. Foram instalados também

um cateter venoso 14 G para reposição volêmica em veia femoral esquerda e um cateter vesical n12 por cistostomia para medida do débito urinário.

Modelo experimental

Trata-se de um modelo de choque hemorrágico não controlado, realizado de acordo com a descrição adiante.

Após registro inicial das variáveis hemodinâmicas, metabólicas e de coagulação basais, foram realizadas uma incisão abdominal subcostal direita e uma biópsia hepática do lobo esquerdo.

A infusão de propofol foi reduzida para 33 µg.kg⁻¹.min⁻¹, sendo a infusão de solução salina isotônica interrompida com o objetivo de minimizar os efeitos anestésicos e de reposição volêmica no modelo.

Uma incisão de 12 cm de extensão por 2 cm de profundidade foi feita no lobo hepático direito, seguida de divulsão digital do ferimento. Na fase de hemorragia, uma sonda de aspiração foi posicionada junto à incisão hepática e o volume de sangue aspirado foi registrado.

Quando a pressão arterial média chegou a 40 mmHg e/ou o sangramento foi superior a 700 mL, foi possível iniciar a fase de intervenção proposta de acordo com o objetivo do estudo.

Variáveis analisadas

Através desse modelo experimental, foi possível analisar variáveis hemodinâmicas de pressões, índices e resistência vasculares. Dados de oxigenação e metabolismo como gasometria arterial e venosa, lactato e glicemia. Dados de coagulação, como, por exemplo, d-dímero, tempo de protrombina, tempo de trombina, tempo de tromboplastina parcial, tromboomodulina, proteína C, fibrinogênio, contagem plaquetária e tromboelastometria. Quantificação de débito urinário e de volume de sangramento.

CONCLUSÕES

Diante da grande variedade de modelos experimentais disponíveis, da dificuldade de se reproduzirem os modelos em laboratórios e, ainda, do inevitável questionamento sobre sua aplicabilidade clínica, os investigadores devem selecionar com cuidado o melhor modelo disponível de acordo com seu objetivo. Não há, ainda, um modelo experimental sobre trauma e choque hemorrágico capaz de responder a todas as questões sobre o tema³. É difícil produzir um modelo ideal capaz de simular situações clínicas reais e de elucidar estratégias terapêuticas aplicáveis na prática médica diária. Cada pesquisador deve utilizar e aprimorar o modelo que mais se adapte a seu objetivo². Na escolha do modelo experimental a ser utilizado é importante definir, dentre outras coisas, a utilização do animal adequado. De maneira geral, ratos são

melhores para estudos bioquímicos, enquanto porcos adaptam-se melhor a estudos sobre alterações hemodinâmicas². Variações de resposta ao trauma e à terapêutica instituída entre as diferentes espécies devem ser sempre levadas em consideração na hora de extrapolar os resultados para a prática clínica.

Mesmo com a dificuldade de transposição dos resultados experimentais para a prática clínica, é importante dar continuidade ao desenvolvimento de estudos experimentais sobre choque hemorrágico, pois as conclusões desses estudos são relevantes e certamente poderão melhorar a atuação clínica no ambiente pré-hospitalar e hospitalar, visando, em última análise, à redução da alta mortalidade e dos custos exorbitantes associados ao trauma.

REFERÊNCIAS / REFERENCES

1. Lomas-Niera JL, Perl M, Chung CS, Ayala A – Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock*, 2005;24:33-39.
2. Tsukamoto T, Pape HC – Animal models for trauma research: what are the options? *Shock*, 2009;31:3-10.
3. Majde JA – Animal models for hemorrhage and resuscitation research. *J Trauma*, 2003;54:100-105.

Resumen: Cavalcante FP, Nani RS, Rocha Filho JA, Auler Junior JOC, Carmona MJC, Machado MCC – Modelo Experimental de Choque Hemorrágico no Controlado en Cerdos.

Justificativa y objetivos: Una comprensión mejor de las alteraciones fisiopatológicas asociadas al trauma y al choque hemorrágico,

puede ayudar en el desarrollo de las terapéuticas capaces de reducir la mortalidad relacionada con el trauma. El objetivo de este estudio es describir un modelo de choque hemorrágico no controlado en cerdos.

Métodos: Como medicación preanestésica, los animales recibieron cetamina y midazolán. La anestesia fue inducida con propofol, y la intubación traqueal fue realizada con la respiración espontánea. Después de la intubación, se realizó el bloqueo neuromuscular. Los animales se mantuvieron bajo respiración mecánica controlada y normocapnia. La anestesia se mantuvo con propofol y fentanil, a tono con la necesidad. Una solución de suero fisiológico al 0,9% fue infundida durante todo el período de la preparación.

Monitoreo: Se usaron el cardioscopio, oxímetro de pulso, medida de presión arterial invasiva, catéter volumétrico de arteria pulmonar y medida de débito urinario por cistostomía. Modelo experimental: después del registro inicial de las variables hemodinámicas, metabólicas y de coagulación, se realizaron la incisión subcostal derecha y la biopsia hepática del lóbulo izquierdo. La infusión de anestésicos fue reducida, mientras que la solución de salina isotónica se interrumpió. Una incisión de 12 cm de extensión por 2 cm de profundidad se hizo en el lóbulo hepático derecho, seguida de una división digital de la herida. Durante la fase de hemorragia, una sonda de aspiración fue posicionada junto a la herida, y el volumen de sangre aspirado fue registrado. Cuando la presión arterial promedio llegó a 40 mmHg y el sangramiento fue superior a 700 mL, pudo iniciarse la fase de intervención de acuerdo con el tipo de estudio.

Conclusión: Es importante continuar desarrollando modelos experimentales con el objetivo final de reducir la alta mortalidad y los costes asociados al trauma.

Descriptor: ANIMAL, Cerdo; CIRUGÍA, Trauma; COMPLICACIONES, Choque.