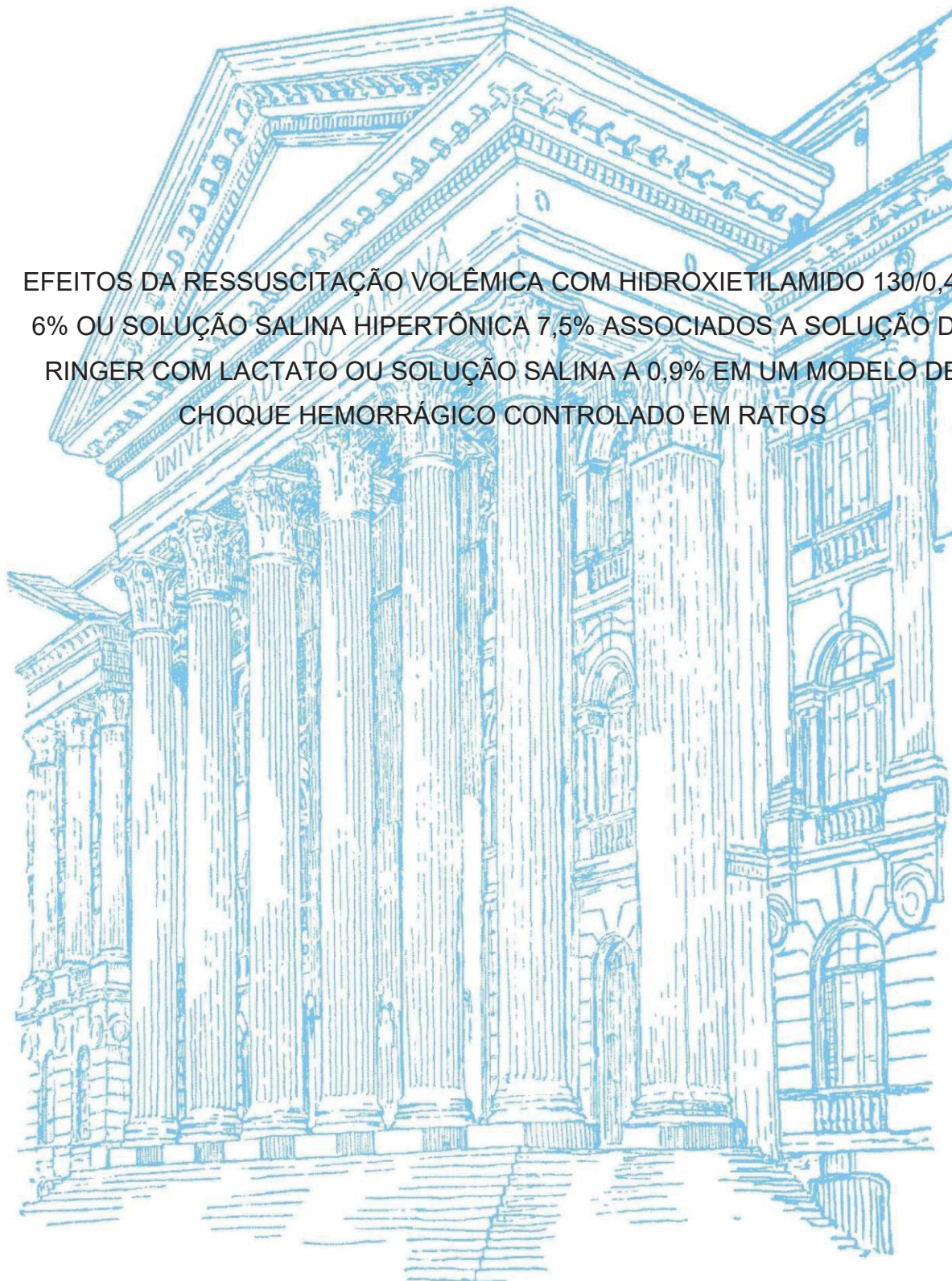


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAUANE SOUSA DE MOURA

EFEITOS DA RESSUSCITAÇÃO VOLÊMICA COM HIDROXIETILAMIDO 130/0,4 A 6% OU SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA 7,5% ASSOCIADOS A SOLUÇÃO DE RINGER COM LACTATO OU SOLUÇÃO SALINA A 0,9% EM UM MODELO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO EM RATOS



CURITIBA
2017

RAUANE SOUSA DE MOURA

EFEITOS DA RESSUSCITAÇÃO VOLÊMICA COM HIDROXIETILAMIDO 130/0,4 A 6% OU SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA 7,5% ASSOCIADOS A SOLUÇÃO DE RINGER COM LACTATO OU SOLUÇÃO SALINA A 0,9% EM UM MODELO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO EM RATOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Juan Carlos Duque Moreno

CURITIBA

2017

Moura, Rauane Sousa de

Efeitos da ressuscitação volêmica com hidroxietilamido 130/0,4 a 6% ou solução salina hipertônica 7,5% associados a solução de ringer com lactato ou solução salina a 0,9% em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos. - Curitiba, 2017.

75f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Orientador: Prof. Dr. Juan Carlos Duque Moreno

1. Veterinária - modelo experimental. 2. Hemogasometria. 3. Coloide. I. Moreno, Juan Carlos Duque. II. Título III. Universidade Federal do Paraná.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "EFEITOS DA RESSUSCITAÇÃO VOLÊMICA COM HIDROXETILAMIDO 130/0,4 A 8% OU SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA 7,5% ASSOCIADOS A SOLUÇÃO DE RINGER COM LACTATO OU SOLUÇÃO SALINA A 0,9% EM UM MODELO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO EM RATOS" apresentada pela Mestranda RAUANE SOUSA DE MOURA declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou a candidata APROVADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 3 de março de 2017

Professor Dr. Juan Carlos Deque Moreno
Presidente/Orientador

Professora Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Membro

Professor Dr. Ricardo Guilherme de Castro Vilani
Membro

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Divino Aparecido de Moura e Valéria Maria de Sousa Moura, por todo o apoio, compreensão e esforço. Obrigado por todo o empenho e a dedicação para que eu pudesse chegar até o mestrado, e para que esta etapa pudesse ser concluída com louvor. A toda a minha família por toda a confiança e força dados ao longo destes dois anos.

Aos amigos residentes, graduandos e pós-graduandos, que estiveram nos momentos de luta e lazer, ajudando e tornando a caminhada mais fácil e prazerosa. À equipe do projeto Dorli da Silva Amora Junior, Gizelli da Silva, Thais Luíza da Silva, Camila Gillies e Letícia Adriano por todo o auxílio e paciência ao longo do projeto. Aos amigos Mariana Cristofolini, Amanda Haisi, Eloisa Muehlbauer, Leonardo Gaspareto, Bruna Brüler e Thayane Vieira por todo o companheirismo, carinho e ajuda.

Aos professores Ricardo Vilani, Fabiano Montiani Ferreira, Marlos Gonçalves Sousa, Roberta Carareto, Tilde Rodrigues Fróes e Peterson Triches Dornbusch por toda a ajuda prestada nos experimentos, projetos executados e disciplinas cursadas ao longo dos dois últimos anos.

À professora Juliana Sperotto Brum, por todo o auxílio, orientação e empenho durante a execução da segunda etapa do projeto na avaliação dos exames histopatológicos, fase de grande importância para o trabalho.

Ao professor Juan Carlos Duque Moreno, pela orientação ao longo dos dois anos do mestrado e de toda a vida acadêmica pregressa. Obrigada por toda a amizade, paciência e todos os ensinamentos. Um mestre, exemplo como profissional, que marca o caminho por onde passa, trabalhando sempre com excelência, e como pessoa um exemplo de caráter, bondade e justiça.

A toda a equipe do Setor de Ciências Agrárias e do Hospital Veterinário da UFPR, docentes, servidores técnico-administrativos e residentes por todo o auxílio e aprendizado ao longo de todo o mestrado.

Aos animais que fizeram parte do estudo e que ao longo de todos estes anos participaram de minha evolução e aprendizado.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo determinar os efeitos da ressuscitação volêmica combinada, utilizando a solução salina hipertônica a 7,5% (SH) e hidroxietilamido 130/0,4 a 6% (HÁ), associados as soluções salina a 0,9% (NS) ou Ringer com lactato (RL). Foram utilizados 38 ratos Wistar, submetidos a choque hemorrágico experimental, divididos em 5 grupos: controle (GC, n = 6); salina hipertônica/salina 0,9% (GSH-NS, n = 8); salina hipertônica/Ringer com lactato (GSH-RL, n = 8); coloide/salina 0,9% (GHA-NS n= 8); e coloide/Ringer com lactato (GHA-RL, n = 8). Com exceção do GC, todos os animais foram submetidos a choque hemorrágico controlado. Em seguida, tratados com solução SH ou solução HA, seguido de desafios hídricos com NS ou RL para manutenção da pressão arterial. Monitorou-se os parâmetros cardiorrespiratórios, gases sanguíneos e eletrólitos, e após eutanásia foi realizada avaliação histopatológica de rins, fígado, coração, pulmão, intestino e cérebro. Houve acidemia grave nos grupos GSH-NS e GHA-RL, hipercloremia somente no GSH-NS, e hiperlactatemia grave em GSH-RL e GHA-RL. A mortalidade foi de 37,5% em GSH-NS e GHA-NS, 25% em GSH-RL, e 50% em GHA-RL. Os grupos GHA-NS e GHA-RL apresentaram escores mais graves de lesão renal, e os grupos GSH-RL e GHA-RL apresentaram lesões hepáticas mais acentuadas. Concluiu-se que o uso das quatro associações promoveu melhora semelhante nos parâmetros cardiorrespiratórios, contudo o uso de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% esteve associado a maior gravidade nas lesões renais, enquanto o RL induziu alterações mais graves no parênquima hepático.

Palavras-chave: Coloide. Cristalóide. Fluidoterapia. Hemogasometria. Hipovolemia

ABSTRACT

The aim of study was to determine the effects of combined volume resuscitation, using 7.5% hypertonic saline solution (SH) and 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 (HA), associated with 0.9% saline solutions (NS) or lactated Ringer (RL). Thirty-eight Wistar rats, submitted to experimental hemorrhagic shock, were divided into 5 groups: control (CG, n = 6); hypertonic saline/0.9% saline (GSH-NS, n = 8); hypertonic saline/lactated Ringer (GSH-RL, n = 8); 0.9% colloid/saline (GHA-NS n=8); and lactated colloid/Ringer (GHA-RL, n = 8). With the exception of the CG, all animals underwent controlled hemorrhagic shock. Then treated with SH solution or HA solution, followed by water challenges with NS or RL to maintain blood pressure. Cardiorespiratory parameters, blood gases and electrolytes were monitored, and after euthanasia, histopathological evaluation of kidneys, liver, heart, lung, intestine and brain was performed. There was severe acidemia in the GSH-NS and GHA-RL groups, hyperchloremia only in the GSH-NS, and severe hyperlactatemia in the GSH-RL and GHA-RL. Mortality was 37.5% in GSH-NS and GHA-NS, 25% in GSH-RL, and 50% in GHA-RL. The GHA-NS and GHA-RL groups had more severe kidney injury scores, and the GSH-RL and GHA-RL groups had more severe liver damage. It was concluded that the use of the four associations promoted a similar improvement in cardiorespiratory parameters, however the use of hydroxyethyl starch 130/0.4 at 6% was associated with greater severity in kidney injuries, while LR induced more severe changes in the liver parenchyma.

Keywords: Colloid. Crystalloid. Fluid therapy. Blood gas analysis. Hypovolemia

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA	Comissão de ética no uso de animais
FC	Frequência cardíaca
<i>f</i>	Frequência respiratória
bpm	Batimentos por minuto
mrm	Movimentos respiratórios por minuto
SpO ₂	Saturação periférica da oxihemoglobina
EtCO ₂	Pressão parcial de gás carbônico no final da expiração
PAM	Pressão arterial média
T°C	Temperatura
PaO ₂	Pressão parcial de oxigênio arterial
PaCO ₂	Pressão parcial de gás carbônico arterial
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
DB	Déficit de base
pH	Potencial de hidrogeniônico

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Variação da pressão arterial média (PAM) ao longo dos momentos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL..... 30
- Figura 2 - Variação de pH, déficit de bases (BE), bicarbonato [HCO₃⁻] e pressão parcial de CO₂ arterial (PaCO₂) ao longo dos momentos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL..... 32

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Médias \pm desvios padrão dos volumes de fluido administrados (mL) em ratos submetidos a choque hemorrágico controlado, ressuscitados com solução salina hipertônica a 7,5% associada a solução salina a 0,9% (GSH-HS) ou a Ringer com lactato (GSH-RL) ou com hidroxietilamido 130/04 a 6% associado a solução salina a 0,9% (GHA-NS) ou a Ringer com lactato (GHA-RL)..... 28
- TABELA 2 - Médias \pm desvios padrão do hematócrito (Ht - %) e dos sólidos totais (St - g/dL) ratos submetidos a choque hemorrágico controlado, ressuscitados com solução salina hipertônica a 7,5% associada a solução salina a 0,9% (GSH-HS) ou a Ringer com lactato (GSH-RL) ou com hidroxietilamido 130/04 a 6% associado a solução salina a 0,9% (GHA-NS) ou a Ringer com lactato (GHA-RL)..... 29
- TABELA 3 - Médias \pm desvios padrão dos valores de pH, pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂), pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂), saturação arterial de oxigênio (sO₂), bicarbonato [HCO₃⁻], déficit de bases (DB), cloreto [Cl⁻], sódio [Na⁺], potássio [K⁺], lactato [LAC] do grupo controle (GC) nos momentos basal (T_{Basal}) e final (T_{Final})..... 31
- TABELA 4 - Mediana dos escores de lesão em avaliação histopatológica do rim em ratos submetidos a choque hemorrágico e tratados com solução salina hipertônica 7,5% e salina isotônica 0,9% (GSH-NS), salina hipertônica 7,5% e Ringer com lactato (GSH-RL), solução de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e salina isotônica 0,9% (GHA-NS) e solução hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e Ringer com lactato (GHA-RL)..... 34
- TABELA 5 - Mediana dos escores de lesão em avaliação histopatológica do fígado em ratos submetidos a choque hemorrágico e tratados com solução salina hipertônica 7,5% e salina isotônica 0,9% (GSH-NS), salina hipertônica 7,5% e Ringer com lactato (GSH-RL), solução de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e salina isotônica 0,9% (GHA-

NS) e solução hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e Ringer com lactato
(GHA-RL)..... 35

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Considerações iniciais.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO 2 - Comparação de diferentes soluções na ressuscitação hídrica combinada em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos.....	19
Resumo.....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e métodos.....	24
Resultados.....	28
Discussão.....	35
Conclusão.....	41
Referências.....	42
ANEXO I: Tabelas de Parâmetros Avaliados.....	48
ANEXO II: Avaliação histopatológica.....	56

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O choque é definido como um estado de perfusão tecidual inadequada, inicialmente causado pela redução do fluxo sanguíneo, que leva a diminuição do aporte de oxigênio e nutrientes às células, provocando alterações no metabolismo celular e disfunção orgânica em rins, fígado, pulmões, coração e cérebro, que se não tratadas, podem ser irreversíveis (DAY & BATEMAN, 2007; DUTTON, 2007; SPINELLA & HOLCOMB, 2009; SCHIMIDT, 2012).

Após a hemorragia a diminuição da pressão arterial resulta em redução da perfusão macro e microvascular e esta última leva a hipóxia e lesões teciduais oxidativas. A perda abrupta de volume intravascular induz respostas sistêmicas, que resultam em vasoconstrição, hipoperfusão e isquemia em diversos órgãos (DUTTON, 2007; SCHIMIDT, 2012). A hipoperfusão persistente leva a lesão celular, que pode gerar necrose e falência de sistemas orgânicos. A isquemia persistente leva tecidos, como músculo e pele, ao metabolismo anaeróbico e produção de ácido láctico, além de induzir a ativação do sistema imune, que passa a mobilizar neutrófilos e produzir mediadores inflamatórios. Após a estabilização da perfusão tecidual, todos estes metabólitos e mediadores inflamatórios são liberados na circulação sistêmica, ocasionando alterações metabólicas, do equilíbrio ácido-base e, em alguns, casos sepse (AYUSTE et al., 2006; VEGA et al., 2008; SANTRY & ALAM, 2010; WU et al., 2011).

Além dessas alterações, a hipoperfusão persistente age em diversos órgãos, como: fígado, diminuindo seu metabolismo e produção de glicose; intestino, alterando a absorção de nutrientes e possibilitando a translocação bacteriana; pulmões, levando a edema agudo e pneumonias; e rins, diminuindo a taxa de filtração glomerular (ALAM et al., 2004; AYUSTE et al., 2006; VEGA et al., 2008; WU et al., 2011; AKSU et al., 2012; CHIMABUCURO et al., 2014). A fase final do choque hemorrágico descompensado é caracterizada pela tríade letal: hipotermia, acidose e coagulopatia. Vários fatores contribuem para esse desfecho, entre eles o metabolismo anaeróbico e a hiperfibrinólise (presente tardiamente após a ativação dos mecanismos de coagulação) (DUTTON, 2007; SPINELLA & HOLCOMB, 2009).

O tratamento do choque hipovolêmico se baseia na reposição volêmica pelo uso de soluções isotônicas cristaloides e coloides, naturais ou artificiais, tendo por

objetivo restabelecer a circulação e a perfusão tecidual, prevenindo os efeitos sistêmicos inflamatórios associados ao choque hemorrágico (DUTTON, 2007; SPINELLA & HOLCOMB, 2009; SCHIMIDT, 2012).

A escolha do tipo de fluido ainda não é um consenso e varia de acordo com o paciente (REVELL et al., 2002; DUTTON, 2007). O volume de fluido a ser utilizado é outro ponto de discussão entre os autores, sendo que a ressuscitação volêmica com cristaloides isotônicos requer maior volume, quando comparada à realizada com cristaloides hipertônicos e coloides (FINFER et al., 2004; HUBY et al., 2012; MYBURGH et al., 2012; URBANO et al., 2012).

A dose dos cristaloides isotônicos varia, sendo que alguns autores recomendam uma reposição de solução equivalente a duas a três vezes o volume perdido de sangue (DRIESSEN & BRAINARD, 2006). No entanto, foi comprovado que volumes excessivos de fluido são prejudiciais, podendo levar a desprendimento dos coágulos e reinício da hemorragia, além de maior incidência de hemodiluição, coagulopatias, hipotermia, distúrbios metabólicos e resposta infamatória (; REVELL et al., 2002; TODD et al., 2007; DUTTON, 2007; SANTRY & ALAM, 2010 KOBAYASHI et al., 2012).

As soluções cristaloides isotônicas têm sido amplamente utilizadas e recomendadas para reposição volêmica e sua popularidade se deve, entre outros fatores, ao fácil acesso e ao baixo custo (DAY & BATEMAN, 2007; DUTTON, 2007; SPINELLA & HOLCOMB, 2009). Contudo, ainda existem controvérsias a respeito do impacto do uso de tais soluções sobre a resposta inflamatória sistêmica, a perfusão tecidual, a ocorrência de coagulopatias e de distúrbios eletrolíticos e ácido-base. A fluidoterapia melhora o débito cardíaco e aumenta a pressão arterial, porém o uso de soluções cristaloides isotônicas leva a hemodiluição, com redução do hematócrito, dos fatores de coagulação e hipotermia, contribuindo assim para a ocorrência de coagulopatias. Com o aumento da pressão arterial obtido após a administração de fluidos, pode haver incremento ou reaparecimento da hemorragia, levando a mais hipovolemia e hipotensão em um círculo vicioso. Portanto, é necessário que a contenção da hemorragia seja feita de forma concomitante à administração de fluidos (DUTTON, 2007).

A solução salina a 0,9% tem sido relacionada a uma boa capacidade de expansão do volume intravascular, porém essa solução promove intensas alterações do equilíbrio ácido-base e eletrolítico (FINFER et al., 2004; URBANO et al., 2012;

AKSU et al., 2012; ZHOU et al., 2014). Embora a solução de Ringer com lactato seja relacionada a menores distúrbios do balanço eletrolítico e ácido-base, quando comparada à solução salina a 0,9% (TODD et al., 2007; BALBINOT et al., 2011), a capacidade de expansão volêmica e manutenção da normotensão das duas soluções em pacientes com choque hipovolêmico aparenta ser semelhante (WATTERS et al., 2004; PHILLIPS et al., 2009). Todavia, alguns autores afirmam que o uso de Ringer com lactato está relacionado ao aumento de mediadores inflamatórios (ALAM et al., 2000; WATTERS et al. 2004; ALAM et al., 2004; AYUSTE et al., 2006; KOBAYASHI et al., 2012).

Soluções cristaloides hipertônicas, como salina a 7,5%, são uma alternativa ao uso de cristaloides isotônicos. Estas soluções são responsáveis por aumentar rapidamente o volume intravascular utilizando baixos volumes, já que o sódio presente na solução sequestra o líquido intersticial, conduzindo-o para o compartimento intravascular, o que as torna contraindicadas em pacientes desidratados (MENSACK, 2008). O efeito hiperosmótico da solução provoca simpatoexcitação, com consequente aumento da pressão arterial e efeito inotrópico, além de levar o líquido do compartimento intersticial para o compartimento vascular, aumentando assim a volemia (SPINELLA & HOLCOMB, 2009). A solução salina hipertônica a 7,5% tem bons resultados para manutenção da normotensão, aumento do débito cardíaco e da oferta de oxigênio tecidual (URBANO et al., 2012; CHIMABUCURO et al., 2014).

Os coloides são soluções de maior peso molecular pelo que permanecem por mais tempo no espaço intravascular. Elas são indicadas para expansão rápida do volume vascular, sobretudo em pacientes com hipoproteïnemia. Os volumes utilizados são inferiores, quando comparados aos cristaloides isotônicos, porém seu uso tem sido associado a complicações renais, alterações da coagulação sanguínea e reações anafiláticas (MENSACK, 2008; KOBAYASHI et al., 2012; SKHIRTLADZE et al., 2014).

Ainda não há consenso a respeito de qual tipo de fluido é o mais indicado para reposição volêmica no choque hemorrágico (REVELL et al., 2002; DUTTON, 2007) e por esse motivo se fazem necessários novos estudos que contribuam para esclarecer melhor os efeitos de tais soluções e que permitam comparar a resposta aos tratamentos realizados com as diferentes opções existentes.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar os efeitos da ressuscitação hídrica empregando-se as soluções de hidroxietilamido 130/04 a 6% ou salina hipertônica a 7,5% associadas com Ringer com lactato ou salina a 0,9%, em ratos submetidos a choque hemorrágico experimental.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os efeitos cardiorrespiratórios e sobre os gases sanguíneos da ressuscitação volêmica com as diferentes associações;
- Comparar as alterações histológicas estruturais nos principais órgãos (cérebro, miocárdio, fígado, rim, intestino, pulmões) após ressuscitação volêmica com as diferentes associações;

3. REFERÊNCIAS

- ALAM, H. B. et al. Effect of different resuscitation strategies on neutrophil activation in a swine model of hemorrhagic shock. **Resuscitation**, vol. 60, p. 91-99, 2004.
- ALAM, H. B. et al. E- and P-Selectin expression depends on the resuscitation fluid used in hemorrhaged rats. **Journal of Surgical Research**, vol. 94, p. 145-152, 2000.
- AKSU, U. et al. Balanced vs Unbalanced crystalloid resuscitation in a near-fatal model of hemorrhagic shock and the effects on renal oxygenation, oxidative stress, and inflammation. **Resuscitation**, vol. 83, p. 767-773, 2012.
- AYUSTE, E. C. M. D. et al. Hepatic and Pulmonary Apoptosis After Hemorrhagic Shock in Swine Can Be Reduced Through Modifications of Conventional Ringer's Solution. **Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care**, vol. 60 – issue 1, p. 52-63, 2006.
- BALBINOT, P. D. Z. et al. Avaliação de cristaloides comerciais administrados por via intravenosa em cães desidratados experimentalmente por restrição e poliúria. **Veterinária e Zootecnia**. vol. 18, n3, p. 441-451, 2011.
- CHIMABUCURO, K. W. et al. O impacto das soluções hipertônica e salina fisiológica na reperfusão do trato gastrointestinal pós-isquemia em ratos. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, vol. 26, n3, p. 277-286, 2014.
- DAY, T. K.; BATEMAN, S. Síndrome Choque. *In*: DIBARTOLA, E. **Anormalidade de fluidos e eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais**. São Paulo: Rocca, 2007. p. 523-546.
- DJILLALI, A. et al. Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock. **Journal of American Association**, vol. 310, n17, p. 1809-1817, 2013.
- DRIESSEN, B.; BRAINARD, B. Fluid therapy for the traumatized patient. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, vol. 16, n4, p. 276-299, 2006.
- DUTTON, R. P. Current concepts in hemorrhagic shock. **Anesthesiology Clinics of North America**, vol. 25, p. 23-34, 2007.
- FINFER, S. M. B. et al. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the Intensive Care Unit. **The New England Journal of Medicine**, vol. 350, p. 2247-2303, 2004.
- HU, S. et al. Pyruvate ringer's solution corrects lactic acidosis and prolongs survival during hemorrhagic shock in rats. **The Journal of Emergency Medicine**, Vol. 45, No. 6, pp. 885–893, 2013.
- HUBY, M. et al. Crystalloid versus colloid resuscitation in a lethal rat model of trauma/hemorrhagic shock. **The FASEB Journal**, vol. 26, p. 1126-1135, 2012.

KOBAYASHI, L.; CONSTANTINI, T. W.; COIMBRA, R. Hypovolemic shock resuscitation. **Surgical Clinics of North America**, vol. 92, p. 1403-1423, 2012.

MENSACK, S. Fluid therapy: options and rational administration. **Veterinary Clinics of North America**, vol. 38, p. 575-586, 2008.

MYBURGH, J. A. et al. Hydroxyethyl starch vs saline for fluid resuscitation in intensive care. **The New England Journal of Medicine**, vol. 367, p. 1901- 1911, 2012.

PHILLIPS, R. C. et al. Resuscitation of hemorrhagic shock with normal saline vs. Lactated ringer's: effects on oxygenation, extravascular lung water and haemodynamics. **Critical Care**, vol. 13, n2, 2009.

REVELL, M.; PORTER, K.; GREAVES, I. Fluid resuscitation trauma care: a consensus view. **Emergency Medicine Journal**, vol. 19, p. 494-498, 2002.

SANTRY, H. P.; ALAM, H. B. Fluid resuscitation: past, present, and the future. **SHOCK**, vol. 33, n3, p. 229-241, 2010.

SCHIMIDT, B. M. S. **Avaliação da resposta laboratorial, hemodinâmica e do fluxo sanguíneo tecidual no choque hemorrágico não controlado em ratos sem reposição volêmica e após reposição volêmica, nas modalidades normotensiva e hipotensão permissiva**. 2012. 86 p. Dissertação (mestrado em cirurgia) – Programa de Pós-graduação em Ciências aplicadas à Cirurgia e oftalmologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2012.

SPINELLA, P. C.; HOLCOMB, J. B. Resuscitation and transfusion principles for hemorrhagic shock. **Blood Reviews**, vol. 23, p. 231-240, 2009.

SKHIRTLADZE, K. et al. Comparison of the effects of albumin 5%, hydroxyethyl starch 130/0,4 6%, and Ringer's lactate on blood loss and coagulation after cardiac surgery. **British Journal of Anaesthesia**, vol.112, n2, p. 255-64, 2014.

TODD, S. R. et al. Lactated Ringer's is Superior to Normal Saline in the Resuscitation of Uncontrolled Hemorrhagic Shock. **Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care**, vol. 62 – issue 3, p. 363-369, 2007.

TROF, R. J. et al. Greater cardiac response of colloid than saline fluid loading in septic and non-septic critically ill patients with clinical hypovolemia. **Intensive Care Medicine**, vol. 36, p. 697-701, 2010.

URBANO, J. et al. Comparison of normal saline, hypertonic saline and hypertonic saline colloid resuscitation fluids in na infant animal model of hypovolemic shock. **Resuscitation**, vol. 83, p. 1159-1165, 2012.

VEGA, D. M. D et al. The influence of the type of Resuscitation fluid on gut injury and distant organ injury in a rat model of trauma/hemorrhagic shock. **Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care**, vol. 65 - Issue 2, p. 409-415, 2008.

WU, B. U. et al. Lactates Ringer's Solution Reduces Systemic Inflammation Compared With Saline in Patients With Acute Pancreatitis. **Clinical gastroenterology and hepatology**, vol. 9, p. 710-717, 2011.

WATTERS, J. M. et al. Resuscitation with lactated ringer's does not increase inflammatory response in a swine model of uncontrolled hemorrhagic shock. **SHOCK**, vol. 22, n3, p. 283-287, 2004.

ZHOU, F. et al. Efect of fluid resuscitation with 0,9% saline versus a balanced electrolyte solution on acute kidney in jury in a rat model of sepsis. **Critical Care Medicine**, vol. 42, n4, p. 270-278, 2014.

CAPÍTULO 2 - Comparação de diferentes soluções na ressuscitação hídrica combinada em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo determinar os efeitos da ressuscitação volêmica combinada, utilizando a solução salina hipertônica a 7,5, % ou o hidroxietilamido 130/0,4 a 6% seguidos das soluções salina a 0,9% ou Ringer com lactato. Foram utilizados 38 ratos Wistar, submetidos a choque hemorrágico experimental e tratamento com diferentes combinações de soluções, de acordo com os grupos: controle (GC, n = 6), submetidos apenas à instrumentação; salina hipertônica/salina 0,9% (GSH-NS, n = 8); salina hipertônica/Ringer com lactato (GSH-RL, n = 8); coloide/salina 0,9% (GHA-NS n= 8); e coloide/Ringer com lactato (GHA-RL, n = 8). Com exceção do GC, todos os animais foram submetidos a choque hemorrágico controlado, mantendo-se a pressão arterial média (PAM) em 40 mmHg durante 60 minutos. Em seguida, tratados com solução salina hipertônica ou solução coloide, seguidos de até três desafios hídricos com solução salina a 0,9% ou Ringer com lactato para manter a PAM \geq 75 mmHg na fase de manutenção (120 min). Nesse período foram monitorados os parâmetros cardiorrespiratórios, gases sanguíneos e eletrólitos, e ao final do experimento os principais órgãos foram analisados por microscopia óptica. O volume médio final de cristalóide isotônico usado foi maior em GHA-RL ($p < 0,001$). Houve acidemia grave em T120 nos grupos GSH-NS e GHA-RL (pH $7,16 \pm 0,22$ e $7,18 \pm 0,22$, $p = 0,028$ e $p < 0,001$, respectivamente), e hiperclôremia somente no GSH-NS ($Cl^- = 142 \pm 23$ mmol/L). Houve hiperlactatemia em todos os grupos em T120, mas somente houve diferenças significativas em GSH-RL ($9,5 \pm 5,6$, $p < 0,001$) e GHA-RL ($8,2 \pm 4,6$, $p = 0,0042$). A mortalidade foi de 37,5% (3/8) em GSH-NS e GHA-NS, 25% (2/8) em GSH-RL, e 50% (4/8) em GHA-RL. Os grupos GHA-NS e GHA-RL apresentaram escores mais graves de lesão renal. Já nos grupos GSH-RL e GHA-RL as lesões hepáticas foram mais acentuadas. Concluiu-se que o uso das quatro associações promoveu melhora semelhante nos parâmetros cardiorrespiratórios em ratos submetidos a choque hemorrágico controlado, contudo o uso de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% esteve associado a maior gravidade nas lesões renais, enquanto o RL induziu alterações mais graves no parênquima hepático.

Palavras-chave: coloide, cristalóide, fluidoterapia, hemogasometria, hipovolemia

Comparison of different solutions in combined fluid resuscitation in a controlled hemorrhagic shock model in rats

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effects of combined hydric resuscitation with 7,5% hypertonic saline solution or hydroxyethyl starch solution, followed by normal saline solution or Ringer's lactate solution in rats under controlled hemorrhagic shock. Thirty-eight Wistar rats were anesthetized with isoflurane, instrumented, submitted to experimental hemorrhagic shock and treated with different combinations of solutions, according of groups: hypertonic saline/normal saline (GSH-NS, n=8); hypertonic saline/Ringer's lactate (GSH-RL, n=8); hydroxyethyl starch /normal saline (GHA-NS n=8); and hydroxyethyl starch/Ringer's lactate (GHA-RL, n=8). Animals in control group (CG, n=6) were anesthetized and instrumented only. To induce the controlled hemorrhagic shock, blood was withdrawn until the mean arterial pressure (MAP) reached 40 mmHg and was maintained at this level for 60 minutes. Immediately after, rats were treated with hypertonic saline solution or colloid solution, followed by up to three challenges with normal saline solution or Ringer's lactate to maintain MAP \geq 75 mmHg in the maintenance phase (120 min). Cardiorespiratory parameters, blood gases and electrolytes were monitored, and at the end of the experiment the rats were killed and samples of the main organs were collected, processed and analyzed by light microscopy. The mean final volume of isotonic crystalloid used was higher in GHA-RL ($p < 0.001$). Severe acidosis was observed in T120 in GSH-NS and GHA-RL groups (pH 7.16 ± 0.22 and 7.18 ± 0.22 , $p=0.028$ and $p < 0.001$, respectively), and hyperchloremia only in GSH-NS group ($Cl^- = 142 \pm 23$ mmol / L). There was hyperlactatemia in all groups in T120, but there were only significant differences in GSH-RL (9.5 ± 5.6 , $p < 0.001$) and GHA-RL (8.2 ± 4.6 , $p=0.0042$). Mortality was 37.5% (3/8) in GSH-NS and GHA-NS, 25% (2/8) in GSH-RL, and 50% (4/8) in GHA-RL. The GHA-NS and GHA-RL groups showed the worst scores of renal damages. Already in the groups GSH-RL and GHA-RL hepatic lesions were more accentuated. It was concluded that the use of the four associations promoted similar improvement in cardiorespiratory parameters in rats submitted to controlled hemorrhagic shock, however, the use of hydroxyethyl starch 130/0.4 was associated with a greater severity in the renal lesions, while the Ringer's lactate solution induced additional graves in the hepatic parenchyma.

Key-words: colloid, crystalloid, fluid therapy, hemogasometry, hypovolemia

INTRODUÇÃO

A hemorragia é uma das causas mais comuns de morte após trauma na rotina de atendimentos em medicina e medicina veterinária. Quando a perda abrupta de sangue não é controlada, a depleção do volume intravascular permite que um estado de hipovolemia e hipoperfusão tecidual se instale, levando ao chamado choque hemorrágico.

Tal estado de hipoperfusão encontrado na hemorragia leva a diminuição do aporte de oxigênio e nutrientes às células, ocasionando mudanças do metabolismo celular, alterações orgânicas e lesões teciduais oxidativas, que quando não tratadas precocemente podem ser irreversíveis (1, 2).

O tratamento do choque hipovolêmico se baseia na reposição volêmica como pilar principal, seja pelo uso de soluções cristaloides, isotônicas ou hipertônicas, e coloides, naturais ou artificiais, tendo por objetivo restabelecer a circulação e a perfusão tecidual, prevenindo os efeitos sistêmicos inflamatórios associados à hipóxia tecidual (1, 2). Entretanto, o uso de fluidoterapia pode levar a hemodiluição, alteração da função plaquetária e de coagulação, aumento da inflamação sistêmica e desequilíbrios ácido-base e eletrolítico (1, 4, 21, 34). Não há consenso a respeito do tipo de fluido a ser escolhido e o volume a ser infundido também é um ponto de conflito entre diversos autores, porém para cristaloides isotônicos os volumes necessários são maiores quando comparados a cristaloides hipertônicos e coloides, sendo recomendado por alguns autores um volume de reposição de até três vezes o volume perdido de sangue (5, 6, 7).

As soluções cristaloides isotônicas têm sido amplamente utilizadas e recomendadas para reposição volêmica devido, entre outros fatores, ao fácil acesso e ao baixo custo. Apesar do amplo uso, ainda existem controvérsias a respeito do impacto do uso de tais soluções, já que os altos volumes empregados na ressuscitação podem ser deletérios sobre a resposta inflamatória sistêmica, a perfusão tecidual, a ocorrência de hemodiluição e coagulopatias e de distúrbios eletrolíticos e ácido-base (4, 8, 9).

A solução salina a 0,9% tem sido relacionada a uma boa capacidade de expansão do volume intravascular, porém promove maiores alterações do equilíbrio ácido-base e eletrolítico (3, 6, 11). Também foi relacionada à normalização da resposta inflamatória sistêmica e estresse oxidativo, porém os resultados encontrados não

possibilitam afirmar que ela é apropriada para tratar tais problemas associados ao choque hemorrágico (3, 12).

A solução de Ringer com lactato é relacionada a um menor distúrbio do balanço eletrolítico e alterações ácido-base, quando comparada à solução salina a 0,9% (3, 13), todavia em relação à capacidade de expansão volêmica e manutenção da normotensão em pacientes com choque hipovolêmico, as duas soluções têm resultados semelhantes (14, 15). Esta solução é contraindicada pela bula dos fabricantes em pacientes com falência hepática, pelo risco de acúmulo de lactato e hiperlactatemia, entretanto não há evidência científica de que o uso de tal fluido produza alterações em função e morfologia hepática, ou que o acúmulo de lactato leve a acidose láctica (9, 18). Alguns autores afirmam que o uso de Ringer com lactato é correlacionado a redução de sinais de inflamação sistêmica, quando comparado ao uso de solução salina 0,9% (16). Para outros, o Ringer com lactato é responsável por uma maior expressão de mediadores inflamatórios, aumento da adesão de neutrófilos, aumento de selectinas (19), apoptose de células dos rins e pulmão, piorando assim o quadro de inflamação sistêmica (17, 18, 19), sem, contudo, alterar a frequência de ocorrência de SIRS (16). Por outro lado, há estudos que mostram que a resposta inflamatória sistêmica é igual em ambos os tratamentos com os cristaloides isotônicos Ringer com lactato e solução salina a 0,9% (14, 15). Por esse motivo, ainda são necessários novos estudos que comparem a resposta inflamatória no tratamento com essas soluções.

Entre os cristaloides hipertônicos, a solução salina a 7,5% tem seu uso amplamente difundido devido ao fácil acesso e baixo custo. Seu efeito sobre a pressão e perfusão tecidual se dá pelo aumento da pressão osmótica. Tal aumento da osmolaridade provoca estimulação simpática, com consequente aumento da pressão arterial e efeito inotrópico. Adicionalmente, o líquido do compartimento intersticial é deslocado para o compartimento vascular, aumentando assim a volemia com a administração de pequenos volumes (2). Devido a sua hiperosmolaridade, esta solução é contraindicada em pacientes desidratados. Além dos efeitos sobre a volemia, a solução salina hipertônica tem efeitos imunomodulatórios, melhorando a resposta inflamatória sistêmica, diminuindo a ativação de neutrófilos, a expressão de citocinas pró-inflamatórias e otimizando a microcirculação (12, 15, 20). Entretanto, o

mecanismo pelo qual se dá o controle da inflamação ainda não foi completamente elucidado.

Como alternativa ao uso de cristaloides, existem as soluções coloides, que repõem a volemia e mantêm a pressão arterial com a administração de volumes menores, quando comparados aos usados com cristaloides isotônicos (5). Estas soluções têm alto peso molecular, resultando em aumento da pressão oncótica, responsável pela expansão plasmática, melhora da função hemodinâmica e da oferta de oxigênio tecidual (DO_2) (1, 4, 21), além da manutenção por mais tempo no espaço intravascular, com pequeno extravasamento intersticial, diminuindo assim a ocorrência de edema (15, 17). Apesar dos benefícios, as soluções coloides têm como efeitos adversos as alterações da coagulação e da capacidade de hemostasia (4, 22) e foram relacionados a lesões renais e hepáticas (14, 17), reações anafiláticas, ativação de neutrófilos (14), aumento das taxas de admissão em unidade de terapia intensiva e de mortalidade tardia (5).

Apesar de, na prática, o atendimento de pacientes com trauma e instabilidade hemodinâmica, envolva o uso de combinações entre cristaloides isotônicos, hipertônicos e coloides (24, 25, 27), a maioria de estudos retrospectivos e meta-análises disponíveis na literatura médica não comparam resultados com uso combinado destas soluções (25, 26, 27). Sabe-se que a combinação de diferentes tipos de soluções diminui os volumes necessários durante a reposição volêmica e, conseqüentemente, os efeitos adversos relacionados à ressuscitação com grandes volumes (28, 29, 30). Tal modelo de ressuscitação hídrica combinada também é capaz de reduzir e corrigir distúrbios eletrolíticos relacionados ao uso de solução salina hipertônica e diminuir o requerimento de coloides, e conseqüentemente, as complicações relacionadas ao seu uso (25, 26, 27, 28).

Ainda não há consenso a respeito de qual tipo de fluido é o mais indicado para reposição volêmica no choque hemorrágico (23) e por esse motivo se fazem necessários novos estudos que contribuam para esclarecer melhor os efeitos da ressuscitação hídrica utilizando estas soluções.

Neste estudo objetivou-se avaliar e comparar os efeitos cardiorrespiratórios, no equilíbrio eletrolítico, ácido-base e as alterações estruturais microscópicas em ratos submetidos a choque hemorrágico controlado e tratados com solução salina hipertônica a 7,5% ou hidroxietilamido 130/0,4 a 6%, associados com solução salina isotônica a 0,9% ou com Ringer com lactato.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 38 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, machos, pesando $295 \pm 5,6$ g, obtidos do biotério central da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR). Os animais foram mantidos em ciclos de luz de 12 h e em temperatura de 20° C, com acesso a água e alimento *ad libitum* ao longo de todo o período prévio ao experimento. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR, processo nº 913).

Anestesia e instrumentação

Para instrumentação e indução do choque hemorrágico os animais foram anestesiados com isoflurano (Isoforine®- Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda. São Paulo – SP) administrado a 4 V%, por meio de câmara de indução. Os ratos foram mantidos sob ventilação espontânea com fração inspirada de isoflurano de 1,3 V%, aferida por analisador de gases anestésicos calibrado (LifeWindow LW9XVet, Digicare Biomedical Technology, FL, EUA). O anestésico foi administrado diluído em oxigênio a 100%, na taxa de 1 L/min, por meio de um circuito sem reinalação de gases. Os animais foram posicionados em decúbito dorsal e intubados por traqueostomia. Após antissepsia e bloqueio anestésico, as regiões femorais direita e esquerda foram dissecadas, seguido de obtenção de acesso venoso na veia femoral esquerda e acessos arteriais nas artérias femorais direita e esquerda para a administração do tratamento, monitoração da pressão arterial e coleta de sangue arterial para indução de hemorragia controlada, respectivamente.

Foi mantida taxa de infusão de 1 mL/h do mesmo cristalóide isotônico usado na ressuscitação volêmica, por meio de bomba de infusão (DigiPump SR8x, Digicare Biomedical Technology, FL, EUA), para manutenção da patência do acesso venoso e reposição de perdas de fluido durante a instrumentação e respiração.

Indução do choque hemorrágico e tratamento

Após o preparo dos animais, a fração expirada de isoflurano foi reduzida e mantida estável em 1 V% durante 15 minutos, para então iniciar-se a retirada de alíquotas sucessivas de sangue arterial para indução do choque hemorrágico. Foram

utilizadas seringas de 1 mL previamente heparinizadas com heparina sódica 1.000 UI/mL para extração de sangue arterial, na velocidade de 2 mL/3 min, até que a pressão arterial média (PAM) atingisse valor de 40 mmHg, sendo mantida nesse patamar por um período de 60 minutos, pela retirada ou administração de alíquotas adicionais de sangue. O volume total retirado não ultrapassou o limite máximo de 45% do volume total circulante, calculado a partir da fórmula: peso corporal (g) x 0,06 x 0,77 (31).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente no grupo controle e em quatro grupos para receberem as diferentes associações. Imediatamente após os 60 minutos de choque controlado, os animais receberam reposição volêmica de fase de ressuscitação aguda, seguida de mais 120 minutos de monitoração, na chamada fase de manutenção, período em que receberam quantidades adicionais de fluido cristalóide para manter a PAM \geq 75 mmHg.

No grupo controle (GC, n = 6) os animais foram submetidos apenas a anestesia e instrumentação cirúrgica. No grupo GSH-NS (n = 8) foi administrada solução salina hipertônica a 7,5% na fase de ressuscitação aguda e solução salina a 0,9% na fase de manutenção. No grupo GSH-RL (n = 8) foi administrada solução salina hipertônica na fase de ressuscitação aguda e solução de Ringer com lactato na fase de manutenção. No grupo GHA-NS (n = 8) foi administrada solução de hidroxietilamido 130/04 a 6% na fase de ressuscitação aguda e solução salina a 0,9% na fase de manutenção. No grupo GHA-RL (n = 8) foi administrada solução de hidroxietilamido 130/04 a 6% na fase de ressuscitação aguda e solução de Ringer com lactato na fase de manutenção.

A dose empregada de solução salina hipertônica a 7,5% foi de 4 mL/kg, administrada de forma contínua num período de 10 min. A solução de hidroxietilamido foi administrada, em infusão contínua, num período de 10 minutos na proporção de 1 mL de coloide para cada mL de volume final de sangue extraído durante a indução do choque. Após a ressuscitação volêmica, os animais foram monitorados durante os 120 minutos da fase de manutenção e, durante esse período, para que a PAM pudesse ser mantida \geq 75 mmHg, foram realizados até três desafios hídricos (10 mL/kg) com as soluções de NaCl a 0,9% em GSH-NS e GHA-NS ou Ringer com lactato em GSH-RL e GHA-RL. Concluída a fase de manutenção os animais foram submetidos a eutanásia, após aprofundamento do plano anestésico, com sobre dose de cloreto de potássio a 19% injetado pela veia femoral.

Variáveis e momentos de avaliação

Foram monitoradas a FC, por meio de eletrocardiografia computadorizada, na derivação II (ECGPC Veterinário, Tecnologia Eletrônica Brasileira, São Paulo – SP, Brasil); pressões arteriais sistólica (PAS), diastólica (PAD) e PAM de forma invasiva, usando um circuito adaptado ao tamanho dos animais conectado ao monitor multiparamétrico (LifeWindow LW9XVet, Digicare Biomedical Technology, FL, EUA); saturação periférica da oxihemoglobina (SpO_2), com o sensor do monitor multiparamétrico posicionado na extremidade distal de um dos membros torácicos (somente no GC); f pela leitura da curva de capnografia na tela do monitor; TR, utilizando para tanto a probe retal do monitor.

As variáveis foram registradas quinze minutos após o fim da instrumentação e manutenção com isoflurano a 1,0 V% (T_{Basal}); a cada 10 minutos durante os 60 minutos em que os ratos permaneceram em choque, sendo considerado o valor médio das avaliações durante este momento (T_{Choque}); imediatamente após o término da fase aguda da ressuscitação (T_{Res}); a cada 10 minutos durante os 120 minutos da fase de manutenção, sendo considerados valores médios dos 30 (T_{30}), 60 (T_{60}), 90 (T_{90}) e 120 (T_{120}) minutos de avaliação. No grupo controle os registros foram realizados a cada 10 minutos durante 60 minutos de anestesia com isoflurano a 1 V%.

O pH, pressões parciais de oxigênio e dióxido de carbono arterial (PaO_2 e $PaCO_2$), saturação da oxihemoglobina (SaO_2), bicarbonato (HCO_3^-), déficit de base (DB), concentrações plasmáticas de sódio [Na^+], potássio [K^+] e cloro [Cl^-] foram avaliadas em amostras de sangue arterial (30 μ L) colhidas nos momentos T_{Basal} , T_{Choque} , T_{Res} , T_{60} e T_{120} . A concentração plasmática de lactato [LAC] foi avaliada unicamente nos momentos T_{Basal} , T_{Choque} e T_{120} . No grupo controle essas variáveis foram avaliadas em T_0 e ao final dos 60 minutos de anestesia (T_{Final}). Em cada avaliação, o volume de sangue não utilizado pelo aparelho de hemogasometria foi utilizado para avaliar o hematócrito (Ht), por microcentrifugação, e os sólidos totais (St) por refratometria.

Avaliação histopatológica

Após a eutanásia, foi realizada necropsia para avaliação de alterações macroscópicas e colheita de fragmentos de intestino delgado (cinco centímetros finais

do intestino delgado, proximal à junção íleocecóclica), baço, coração, rins, encéfalo, fígado e pulmão. As peças foram conservadas em formol tamponado a 10%, processadas rotineiramente para histopatologia, coradas com hematoxilina e eosina e avaliadas por microscopia óptica para pesquisa de lesões celulares e estudo histológico descritivo.

Na avaliação foram adotadas escalas previamente publicadas (32), com escores variando de 0 a 3 (leve, moderado e grave) para as lesões nos diversos fragmentos de órgãos coletados. Na avaliação renal observou-se a ocorrência de edema de células tubulares, vacuolização celular, picnose, congestão medular e presença de glomérulos diminuídos. A avaliação hepática considerou para avaliação os parâmetros de perda da cor de citoplasma, vacuolização, condensação e fragmentação nuclear, perda da cor de núcleo e congestão. Os parâmetros para estudo de lesões em pulmão foram edema intersticial, edema alveolar, hemorragia alveolar, atelectasia, congestão pulmonar e infiltrado inflamatório. Para intestino utilizou-se uma escala numérica na qual se considerou escore 0 para mucosa íntegra; escore 1 para presença de espaço sub-epitelial e vilosidades associados ou não a congestão; escore 2: extensão moderada de espaço sub-epitelial, com separação do mesmo e lâmina própria; escore 3: presença massiva de espaço sub-epitelial com desnudamento de vilosidades.

Análise estatística

Para verificar a normalidade da distribuição dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para a comparação das variáveis cardiorrespiratórias, entre os grupos, em cada momento estudado, foi utilizada a análise de variância de uma via, seguida pelo teste de Tukey; e para a comparação entre os diferentes tempos, no mesmo grupo, ao longo do experimento foi usada a análise de variância para medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey. Foi considerado nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Volume de fluido administrado, hemodiluição e sobrevivida

Não houve diferenças entre os volumes médios de sangue retirados nos diferentes grupos, que foram de $5,87 \pm 0,53$ mL, $5,98 \pm 0,38$ mL, $5,72 \pm 0,48$ mL e $5,86 \pm 0,42$ mL para GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL, respectivamente.

O volume médio de cristalóide isotônico administrado durante a fase de manutenção e o total de fluido administrado no GHA-RL foi maior que o utilizado nos outros três grupos ($p < 0,001$) (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias \pm desvios padrão dos volumes de fluido administrados (mL) em ratos submetidos a choque hemorrágico controlado, ressuscitados com solução salina hipertônica a 7,5% associada a solução salina a 0,9% (GSH-NS) ou a Ringer com lactato (GSH-RL) ou com hidroxietilamido 130/04 a 6% associado a solução salina a 0,9% (GHA-NS) ou a Ringer com lactato (GHA-RL).

Grupo	Fase aguda	Fase de manutenção	Manutenção patência da veia femoral	Solução de lavagem dos acessos	Total
GC	-	-	$1,42 \pm 0,03$	$1,22 \pm 0,02$	$2,64 \pm 0,05$
GSH-NS	$1,18 \pm 0,05$	$8,7 \pm 4,0^A$	$1,34 \pm 0,09$	$2,0 \pm 0,7$	$14,9 \pm 4,7^A$
GSH-RL	$1,18 \pm 0,05$	$6,6 \pm 3,2^A$	$1,32 \pm 0,08$	$2,4 \pm 1,0$	$13,2 \pm 4,2^A$
GHA-NS	$5,72 \pm 0,48$	$7,0 \pm 3,4^A$	$1,4 \pm 0,07$	$2,0 \pm 1,1$	$16,1 \pm 4,5^A$
GHA-RL	$5,86 \pm 0,42$	$9,8 \pm 2,7^B$	$1,4 \pm 0,06$	$2,1 \pm 0,4$	$19,4 \pm 4,8^B$

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre grupos.

O Ht e os St foram significativamente menores em T_{Choque} , T_{Res} , T60 e T120, quando comparados com T_{Basal} , em todos os grupos (Tabela 2).

O número de animais que morreram antes do final da fase de manutenção foi de 3/8 (37,5%), 2/8 (25%), 3/8 (37,5%), 4/8 (50%), nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL, respectivamente.

Tabela 2 – Médias \pm desvios padrão do hematócrito (Ht - %) e dos sólidos totais (St – g/dL) ratos submetidos a choque hemorrágico controlado, ressuscitados com solução salina hipertônica a 7,5% associada a solução salina a 0,9% (GSH-HS) ou a Ringer com lactato (GSH-RL) ou com hidroxietilamido 130/04 a 6% associado a solução salina a 0,9% (GHA-NS) ou a Ringer com lactato (GHA-RL).

Grupo	Variável	T _{Basal}	T _{Choque}	T _{Res}	T ₆₀	T ₁₂₀ /T _{Final}
GC	Ht (%)	39,7 \pm 3,2	-	-	-	35,5 \pm 5,3
	St (g/dL)	5,4 \pm 0,7	-	-	-	4,5 \pm 0,4
GSH-NS	Ht (%)	44,3 \pm 3,1 ^a	35,5 \pm 4,9 ^b	30,3 \pm 5,6 ^b	29,3 \pm 5,5 ^b	27,7 \pm 5,5 ^b
	St (g/dL)	5,1 \pm 0,5 ^a	4,1 \pm 0,1 ^b	3,6 \pm 0,7 ^b	3,6 \pm 0,5 ^b	3,5 \pm 0,5 ^b
GSH-RL	Ht (%)	44,4 \pm 2,3 ^a	37,4 \pm 4,4 ^b	30,4 \pm 4,0 ^b	29,4 \pm 3,1 ^b	28,3 \pm 2,9 ^b
	St (g/dL)	4,9 \pm 0,8 ^a	4,3 \pm 0,4 ^b	3,9 \pm 0,65 ^b	3,5 \pm 0,7 ^b	3,6 \pm 0,5 ^b
GHA-NS	Ht (%)	44 \pm 2,5 ^a	36,9 \pm 3,2 ^b	30,1 \pm 5,6 ^b	30,1 \pm 4,0 ^b	29,8 \pm 5,0 ^b
	St (g/dL)	4,9 \pm 0,4 ^a	4,2 \pm 0,1 ^b	3,9 \pm 0,4 ^b	3,6 \pm 0,4 ^b	3,4 \pm 0,3 ^b
GHA-RL	Ht (%)	44,1 \pm 4,2 ^a	36 \pm 5,1 ^b	29,1 \pm 4,9 ^b	28,4 \pm 5,7 ^b	31,6 \pm 4 ^b
	St (g/dL)	4,7 \pm 0,4 ^a	4,1 \pm 0,2 ^b	3,7 \pm 0,3 ^b	3,1 \pm 0,2 ^b	3,2 \pm 0,3 ^b

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre tempos

Parâmetros cardiorrespiratórios

Não houve variações significativas em FC, *f* e TR ao longo do período de avaliação em nenhum dos grupos experimentais. No grupo controle todas as variáveis se mantiveram dentro dos valores esperados para a espécie.

Os valores médios de PAM durante os 60 minutos da fase de choque foram de 46,1 \pm 4,2 mmHg; 46,4 \pm 5,9 mmHg; 41,6 \pm 2,5 mmHg; 46,8 \pm 6,6 mmHg nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHS-NS e GHA-RL, respectivamente.

Logo após o fim da fase aguda de reposição volêmica, momento T_{Res}, houve aumento da PAM para os valores de 89,9 \pm 18,8 mmHg; 93,4 \pm 23 mmHg; 86,9 \pm 9,1; e 84,8 \pm 20,8 mmHg, nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHS-NS e GHA-RL, respectivamente (Figura 1), sem diferenças estatísticas entre grupos. Entretanto, a resposta adequada ao tratamento na fase aguda de ressuscitação, com manutenção da PAM \geq 75 mmHg, não foi observada em 2/8 animais nos grupos GSH-NS, GHA-NS e GHA-RL e 3/8 animais no GSH-RL. Após uma hora da ressuscitação inicial, 7/8 animais já haviam precisado receber bolus de cristalóide isotônico em GSH-NS, 5/8 em GSH-RL e GHA-NS e 6/8 em GHA-RL para manter a PAM no valor pré-determinado. Mesmo após a administração de três bolus de 10 mL/kg de cristalóide

isotônico não foi observada resposta adequada em 7/8 animais em GSH-NS e GHA-RL e 6/8 em GSH-RL e GHA-NS.

O número de animais que após a fase de ressuscitação aguda mantiveram a PAM nos valores predeterminados sem precisar receber bolus adicionais de cristalóide isotônico foi de 1/8 em GSH-NS, GHA-NS e GHA-RL e 2/8 em GSH-RL.

Na comparação entre grupos, a PAM no GHA-RL foi menor que a de todos os demais grupos em T60 ($p < 0,001$). No momento T90 a PAM dos grupos GSH-NS e GHA-RL foi menor que a observada em GSH-RL e GHA-NS ($p = 0,005$ e $p < 0,001$, respectivamente). No momento T120 a PAM do grupo GHA-NS foi superior à registrada em todos os demais grupos ($p = 0,01$).

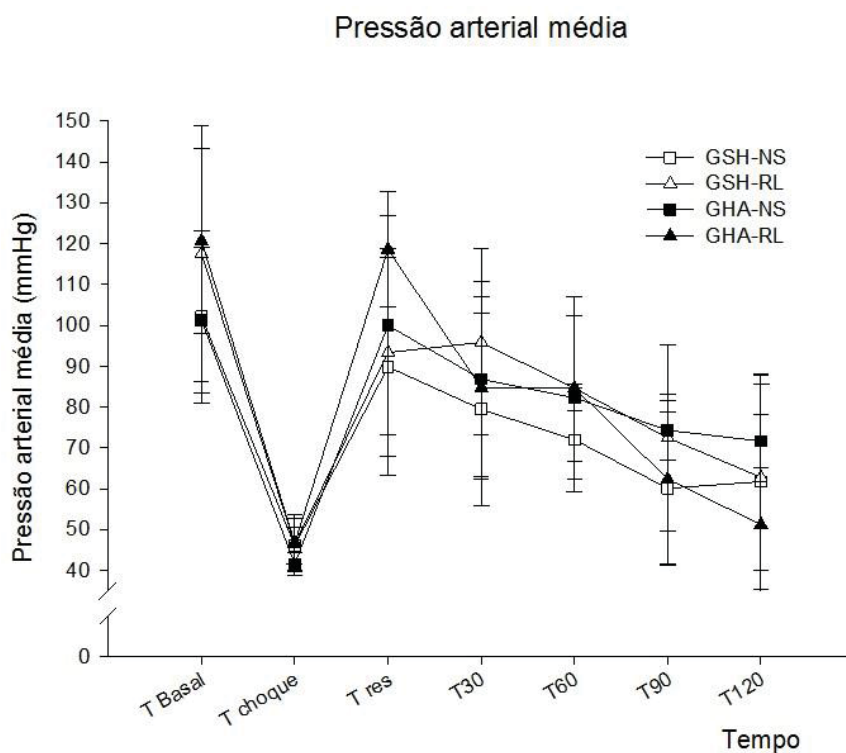


Figura 1 – Variação da pressão arterial média (PAM) ao longo dos momentos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

Equilíbrio ácido-base, eletrolítico e lactato

Os valores médios de pH, PaO₂, PaCO₂, sO₂, HCO₃⁻ e DB no grupo controle não apresentaram variações significativas entre tempos e se mantiveram dentro dos valores de referência para ratos anestesiados com isoflurano (Tabela 4).

TABELA 3 – Médias \pm desvios padrão dos valores de pH, pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂), pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂), saturação arterial de oxigênio (sO₂), bicarbonato [HCO₃⁻], déficit de bases (DB), cloreto [Cl⁻], sódio [Na⁺], potássio [K⁺], lactato [LAC] do grupo controle (GC) nos momentos basal (T_{Basal}) e final (T_{Final})

	T _{Basal}	T _{Final}
pH	7,43 \pm 0,02	7,39 \pm 0,07
PaCO₂ (mmHg)	31,45 \pm 3,75	36,42 \pm 9,07
PaO₂ (mmHg)	216,75 \pm 9,44	282,25 \pm 22,62
HCO₃⁻ (mmol/L)	20,42 \pm 1,78	21,72 \pm 1,58
DB (mmol/L)	- 3,62 \pm 1,57	2,77 \pm 0,78
Cl⁻ (mmol/L)	105 \pm 1,6	104 \pm 0,6
Na⁺ (mmol/L)	152 \pm 3,2	147,2 \pm 4,1
K⁺ (mmol/L)	4,7 \pm 0,5	5,2 \pm 0,5
Lactato (mmol/L)	1,4 \pm 0,2	1,9 \pm 0,6

Nos grupos experimentais o pH diminuiu gradativamente ao longo das avaliações, mas em comparação com os respectivos momentos T_{Basal}, foi significativamente menor unicamente no momento T120 nos grupos GSH-NS ($p = 0,02$) e GHA-RL ($p < 0,001$). Na comparação entre grupos, o pH em GHA-NS foi significativamente superior ao dos demais grupos no momento T120 ($p = 0,038$).

Embora o DB tenha sido superior em todos os momentos, em comparação com os respectivos T_{Basal}, em todos os grupos, a única diferença estatisticamente significativa foi observada no momento T_{Choque} no grupo GHA-NS. Da mesma forma, apesar de o DB ter sido maior nos grupos GSH-NS (-15,3 \pm 6,3 mmol/L) e GHA-RL (-10,7 \pm 7,1 mmol/L) que nos grupos GSH-RL (-8,5 \pm 3,1 mmol/L) e GHA-NS (-5,6 \pm 3,4 mmol/L) em T120, não foram registradas diferenças significativas.

O HCO₃⁻ diminuiu significativamente em todos os momentos de avaliação em comparação com o T_{Basal} nos grupos GSH-NS ($p < 0,001$), GSH-RL ($p < 0,001$) e GHA-RL ($p < 0,001$). No GHA-NS o HCO₃⁻ diminuiu significativamente, em comparação ao T_{Basal}, em T_{choque} ($p < 0,001$), mas após o início da ressuscitação volêmica aumentou gradativamente até o final das avaliações.

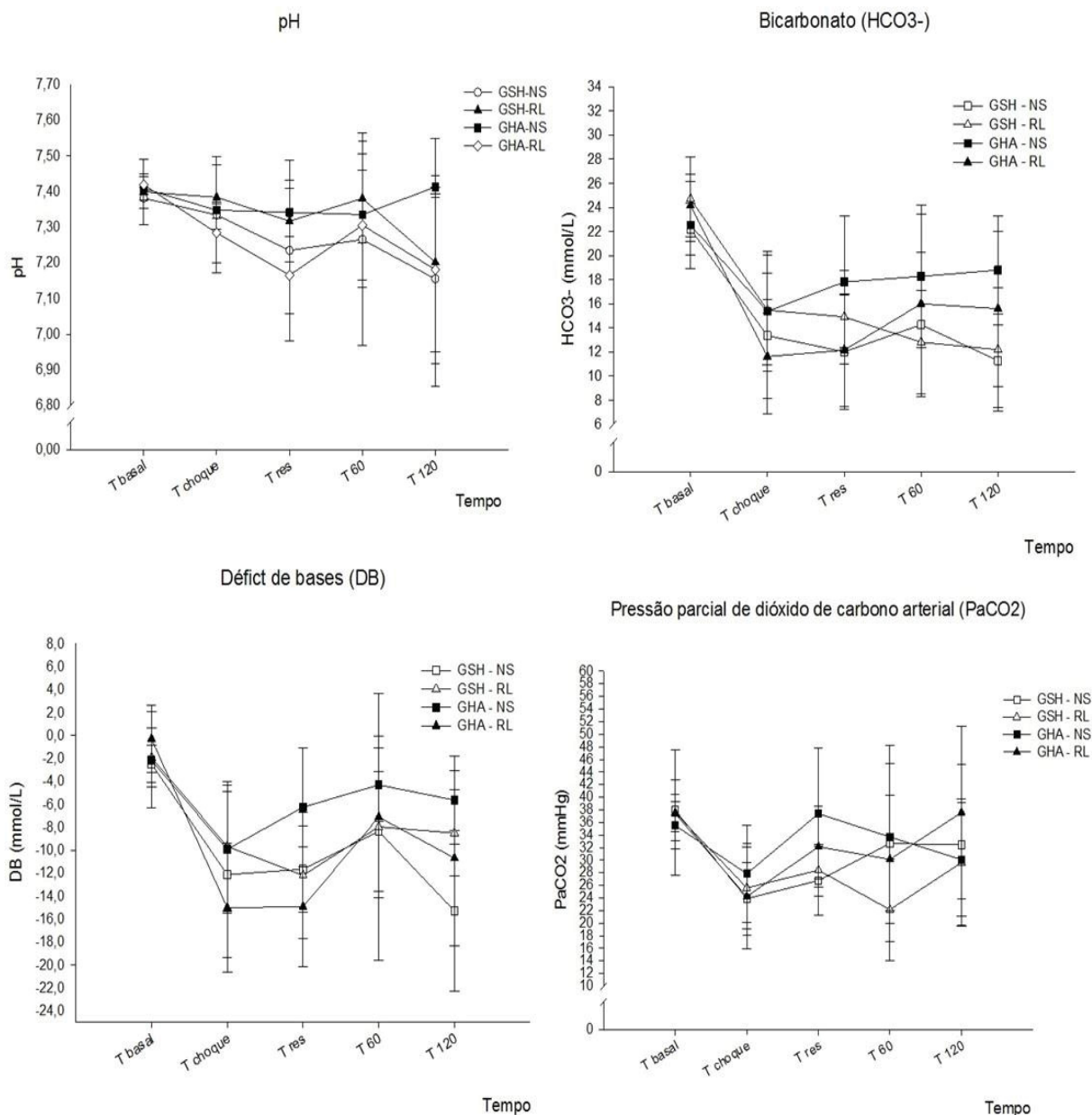


Figura 2 – Variação de pH, déficit de bases (BE), bicarbonato (HCO₃⁻) e pressão parcial de CO₂ arterial (PaCO₂) ao longo dos momentos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

Na avaliação dos gases sanguíneos, observou-se diminuição da PaCO₂ no momento T_{Choque} em todos os grupos, porém somente se detectou diferença estatisticamente significativa no grupo GHA-RL ($p = 0,022$).

Apesar de os valores de [Cl⁻] no momento T₁₂₀ terem sido significativamente superiores aos observados em T_{Basal} nos grupos GSH-NS ($p = 0,003$), GSH-RL ($p = 0,021$) e GHA-RL ($p = 0,015$), somente no GSH-NS ($139,1 \pm 23,4$ mmol/L) foram registrados valores compatíveis com hiperclorêmia em ratos (valores de referência para ratos 105 - 125 mmol/L).

Os valores de $[K^+]$ no momento T120 também foram significativamente superiores aos observados em T_{Basal} nos grupos GSH-NS ($p = 0,003$), GSH-RL ($p = 0,002$) e GHA-RL ($p = 0,013$), considerando a ocorrência de hipercalemia somente nos grupos GSH-NS ($8,0 \pm 1,6$ mmol/L) e GSH-RL ($10,2 \pm 5,7$ mmol/L) (valores de referência para ratos $4,0 - 8,0$ mmol/L).

O [LAC] aumentou em todos os grupos no momento T_{Choque} , em comparação com T_{Basal} , mas somente se registrou significância estatística nos grupos GSH-RL ($p < 0,001$) e GHA-RL ($p = 0,0042$). No momento T120 o [LAC] permaneceu em valores significativamente superiores ao T_{Basal} unicamente nos grupos GSH-RL ($p = 0,002$) e GHA-RL ($p < 0,001$). Apesar dessa tendência não foram detectadas diferenças significativas entre grupos.

Avaliação histopatológica

Na avaliação do grupo controle não foram encontradas quaisquer alterações em nenhum dos órgãos avaliados. Tampouco foram encontradas alterações dignas de nota em coração, pulmão, encéfalo, intestino delgado ou baço em nenhum dos grupos avaliados. Os escores observados na avaliação de rim e fígado estão apresentados nas tabelas 5 e 6.

Na avaliação de rim no grupo GSH-NS observou-se grau leve de edema de células tubulares; ausência de vacuolização ou congestão medular; grau leve de picnose nas células tubulares e encolhimento glomerular. As áreas de picnose sempre foram observadas associadas ao edema e na região periglomerular. No fígado foram observados graus leves de descoloração e vacuolização citoplasmática, condensação nuclear e congestão, mas sem a presença de fragmentação nuclear.

No grupo GSH-RL a avaliação do rim demonstrou grau leve a moderado de edema de células tubulares; grau leve de vacuolização, picnose, congestão medular e encolhimento glomerular. As áreas de núcleo picnótico estavam associadas às regiões de vacuolização e edema celular, demonstrando assim o início do processo de degeneração e necrose celular. Em fígado foram observados graus leve a moderado de descoloração e vacuolização citoplasmática, condensação nuclear e congestão; e escores de grau leve de fragmentação nuclear.

Nos rins do grupo GHA-NS foi observado grau moderado a grave de edema tubular; graus leves a moderados de vacuolização citoplasmática e picnose de células tubulares; e graus leves de congestão medular e encolhimento de glomérulo. Células

com núcleo picnótico estavam presentes nas áreas com vacuolização. Em fígado estiveram ausentes a descoloração citoplasmática e a fragmentação nuclear; foram observados escores de grau leve a moderado de condensação nuclear, congestão e grave vacuolização citoplasmática; foi ainda observada estase de células inflamatórias, com presença de linfócitos e neutrófilos.

Nos rins do GHA-RL os escores de edema tubular variaram de moderado a grave; com presença de vacuolização citoplasmática e picnose de células tubulares grau leve a moderado; congestão ausente a leve; e grau moderado de encolhimento glomerular. A vacuolização e a picnose foram observadas em áreas dispersas pela lâmina. Em fígado foram observados escores graves de vacuolização, mas estiveram ausentes a descoloração citoplasmática, a fragmentação nuclear e a congestão.

Tabela 4 – Mediana dos escores de lesão em avaliação histopatológica do rim em ratos submetidos a choque hemorrágico e tratados com solução salina hipertônica 7,5% e salina isotônica 0,9% (GSH-NS), salina hipertônica 7,5% e Ringer com lactato (GSH-RL), solução de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e salina isotônica 0,9% (GHA-NS) e solução hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e Ringer com lactato (GHA-RL).

	Edema de células tubulares	Vacuolização celular	Núcleo picnótico	Congestão medular	Glomérulos encolhidos
GSH-NS	1 [1-1]	0 [0-1]	1 [1-2]	0 [0-1]	1 [1-1]
GSH-RL	2 [2-3]	1 [1-2]	1 [1-2]	1 [1-2]	2 [2-4]
GHA-NS	2 [2-4]	1 [1-2]	2 [2-3]	1 [1-2]	1 [1-2]
GHA-RL	2 [2-4]	2 [2-4]	1 [1-2]	2 [2-4]	2 [2-4]

Tabela 5 – Mediana dos escores de lesão em avaliação histopatológica do fígado em ratos submetidos a choque hemorrágico e tratados com solução salina hipertônica 7,5% e salina isotônica 0,9% (GSH-NS), salina hipertônica 7,5% e Ringer com lactato (GSH-RL), solução de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e salina isotônica 0,9% (GHA-NS) e solução hidroxietilamido 130/0,4 a 6% e Ringer com lactato (GHA-RL).

	Descoloração citoplasmática	Vacuolização	Condensação nuclear	Fragmentação nuclear	Congestão
GSH-NS	1 [1-1]	1 [1-1]	1 [1-1]	0 [0-1]	1 [1-1]
GSH-RL	2 [2-3]	2 [2-4]	2 [2-3]	1 [1-2]	2 [2-4]
GHA-NS	0 [0-1]	3 [2-4]	2 [2-3]	0 [0-1]	2 [2-3]
GHA-RL	0 [0-1]	3 [2-4]	3 [2-4]	0 [0-1]	0 [0-1]

DISCUSSÃO

A resposta ao tratamento da hipotensão arterial e a manutenção da pressão arterial nos valores estabelecidos foram semelhantes após fase aguda de reposição volêmica, contudo observou-se maior requerimento de cristaloides isotônicos na fase de manutenção nos grupos GSH-NS e GHA-RL. O volume médio de sangue extraído nos grupos foi semelhante, entretanto o volume final de fluido administrado no grupo GHA-RL foi superior aos dos outros grupos, sendo isto devido ao maior volume de cristalóide isotônico administrado durante a fase de manutenção. Apesar de o volume do grupo GHA-RL ser superior ao dos demais grupos, a hemodiluição observada foi semelhante entre os grupos, e observada a partir de T60. Estudos anteriores comparando ressuscitação volêmica com coloide sintético e solução salina 0,9% demonstram que tal reposição leva a hemodiluição, de forma semelhante independente do tratamento empregado (1).

Além das diferenças entre volumes administrados, foram observadas diferenças nas taxas de mortalidade nos diferentes tratamentos. Embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas entre tais taxas, o grupo tratado com associação de solução salina hipertônica e solução de Ringer com lactato teve menor número de óbitos na fase de manutenção, sendo ainda o grupo com menor volume final de cristalóide administrado, e com o menor requerimento de bolus adicionais de fluido para manutenção da PAM. Diferentemente da ressuscitação hídrica combinada,

em outros modelos com uso exclusivo de cristaloides isotônicos, percebe-se que as taxas de mortalidade são altas (7, 31), chegando a 100% na administração isolada de Ringer com lactato (9) para reposição volêmica em choque hemorrágico. A literatura médica consultada relata ainda que o uso de solução salina isotônica a 0,9% e solução colóide de hidroxietilamido 130/0,4 tem taxas de mortalidade semelhantes em até 90 dias, embora o uso de solução colóide tenha sido relacionado a maior ocorrência de eventos adversos (5).

Os volumes totais administrados em todos os grupos se aproximaram de três vezes o volume extraído de sangue, e o volume de cristalóide isotônico administrado na fase de manutenção para manter a pressão arterial foi maior no grupo GHA-RL. Embora não existam trabalhos com uso de ressuscitação combinada, como no modelo de reposição volêmica do presente estudo, alguns trabalhos utilizando soluções cristaloides isotônicas, na proporção de três vezes o volume de sangue extraído, não demonstraram respostas adequadas para melhora da hipotensão tanto no uso de solução de Ringer com lactato (9), como no uso de solução salina a 0,9% (13). Os estudos atuais demonstram que a ressuscitação com soluções cristaloides isotônicas necessita de elevados volumes (7, 9, 14, 15, 31), variando de três (9, 31) à dez (14) vezes o volume de sangue perdido. Ao se comparar o uso de solução colóide de hidroxietilamido 103/0,6 a 6% à solução de Ringer com lactato em reposição volêmica não relacionada ao choque hemorrágico (4), percebe-se que mesmo com uso de volume menores de colóide, o impacto negativo sobre a coagulação e a perfusão tecidual foi inferior quando do uso da solução de Ringer com lactato. Portanto a ressuscitação combinada diminui os volumes requeridos durante a reposição volêmica, diminuindo também suas consequências deletérias, como coagulopatias (4) por hemodiluição e desequilíbrios eletrolíticos e ácido-base.

O uso de ressuscitação hídrica combinada se mostrou efetivo para o aumento da pressão arterial, com efeito que perdurou por até 90 minutos nos grupos com associação entre solução salina hipertônica e solução de Ringer com lactato e a associação de colóide e solução salina isotônica. A estabilização da pressão após o uso de colóide e cristalóide hipertônico foi semelhante, e quando comparados os cristaloides isotônicos utilizados, não foram observadas diferenças importantes na manutenção da pressão e volumes administrados entre solução salina 0,9% ou Ringer com lactato. Embora a resposta sobre a pressão arterial, observada no presente estudo e em estudos prévios (3), tenha sido semelhante na comparação entre os

cristaloides isotônicos, alguns autores afirmam que a perfusão tecidual seja pior com o uso de soluções não balanceadas, como a solução salina isotônica a 0,9% (3). A resposta sobre a manutenção da pressão arterial no modelo de ressuscitação combinada se mostrou superior à resposta observada em trabalhos anteriores adotando a reposição volêmica com uso de cristalóide isotônico isolado e em volumes semelhantes (9, 13), em que a hipotensão persistiu mesmo após o tratamento,

Alterações do equilíbrio ácido-base foram observadas durante o período de indução de choque em todos os grupos, entretanto a acidose só persistiu nos grupos GSH-NS e GHA-RL, sendo que ao final dos 120 minutos de avaliação os demais grupos não apresentaram acidose metabólica. A acidose observada no grupo tratado com associação de solução salina hipertônica e salina isotônica está relacionada a hiperclôremia, já que tais soluções não balanceadas são ricas em cloro e sódio (6, 11, 14, 15), e seu uso está relacionado a maior desequilíbrio ácido-base e eletrolítico quando comparado ao uso de cristaloides balanceados (3, 11, 13, 14, 15, 16). A associação de solução salina hipertônica e solução de Ringer com lactato não promoveu alterações do equilíbrio ácido base ao final dos 120 minutos de avaliação, o que pode ser justificado pelo poder de tampão do RL.

Embora o RL seja relacionado a menor impacto sobre o equilíbrio eletrolítico, quando comparado ao uso de soluções não balanceadas, como a solução salina a 0,9% (13, 15), a reposição volêmica utilizando a associação da solução de Ringer com lactato à solução colóide de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% não promoveu melhora da acidose observada após o período de hipotensão. Alguns trabalhos sugerem também, que o uso isolado do RL não seja capaz de controlar acidose induzida por choque hemorrágico em um modelo utilizando ratos (9).

Os grupos tratados com RL apresentaram hiperlactatemia, associada ou não à acidose. Esta hiperlactatemia não relacionada à acidose láctica no presente estudo, também foi observada em outros trabalhos comparando o uso de tal solução à soluções como o Ringer piruvato (33) e solução salina a 0,9% (13). Entretanto, em alguns trabalhos o uso isolado de RL na reposição volêmica no choque foi responsável por hiperlactatemia e acidose metabólica (9). A hiperlactatemia não esteve associada à acidose metabólica no grupo GSH-RL, e alguns trabalhos demonstram que após 24h do uso da solução (46), esta hiperlactatemia deixa de existir devido à diluição do lactato presente na solução, sendo incapaz de produzir acidose láctica (47).

O uso do RL tem sido descrito como responsável por tamponamento e aumento do pH sanguíneo, sendo a solução relacionada com menor impacto sobre o equilíbrio ácido-base e eletrolítico (13,14,15). Em comparação à solução salina isotônica, a solução de Ringer com lactato é relacionada a uma melhor estabilização hemodinâmica, com menores volumes administrados, e melhor equilíbrio eletrolítico e ácido-base (13,14,15), porém no presente estudo a associação de solução colóide e salina isotônica demonstrou resultados superiores sobre os parâmetros cardiorrespiratórios e a manutenção do equilíbrio ácido-base e eletrolítico (grupo GHA-NS), quando comparado a associação de colóide e Ringer com lactato no grupo GHA-RL. O uso da solução de Ringer com lactato promoveu correção do desequilíbrio ácido-base e eletrolítico, após o uso da solução salina hipertônica a 7,5% (grupo GSH-RL), sendo observado agravo no desequilíbrio quando do uso de solução salina a 0,9% na fase de manutenção, no grupo GSH-NS.

Apesar do uso de cristalóides isotônicos balanceados ser relacionado a um menor impacto sobre o equilíbrio eletrolítico, sua ressuscitação é feita com volumes superiores aos utilizados no modelo de ressuscitação hídrica combinada. Assim como o modelo de reposição volêmica adotado no estudo, a ressuscitação hídrica utilizando menores volumes tem sido considerada superior à ressuscitação exclusivamente com cristalóide isotônicos, quando se compara o prognóstico e mortalidade tardia (28, 29, 24, 35, 36), e a associação entre cristalóides isotônicos, cristalóides hipertônicos e colóides otimiza o volume administrado (35). Até o momento nenhum tipo de fluido isolado provou ser melhor que demais fluidos, sendo cada fluido responsável por um impacto diferente sobre a resposta imunológica, equilíbrio ácido-base e eletrolítico, cascata de coagulação e funções orgânicas, portanto cada solução possui vantagens e desvantagens, e suas associações otimizam seu uso.

No presente estudo as associações foram eficientes para a reposição volêmica e manutenção do equilíbrio ácido-base e eletrolítico, todavia os parâmetros relacionados à isquemia e reperfusão observados histologicamente não foram satisfatórios pois houve escores graves de lesões em rins e fígado. A associação de hidroxietilamido e Ringer com lactato no presente estudo foi relacionada ao maior número de óbitos e acidose metabólica, diferente do observado em um estudo com cães, em que a associação foi responsável pela melhora de parâmetros clínicos, equilíbrio ácido base e da perfusão renal, com valores de débito urinário e creatinina sérica dentro do esperado para a espécie (37).

A reposição volêmica combinada deveria ter impacto positivo sobre a oxigenação tecidual, e conseqüentemente sobre alterações orgânicas relacionadas à hipoperfusão. O uso de solução salina hipertônica aumenta a pressão hidrostática, levando a efeitos hemodinâmicos positivos, que melhoram a oxigenação e perfusão tecidual (6), justificando assim os baixos escores de lesão orgânica observados no tratamento empregando tal solução. Embora o uso de solução colóide tenha sido relacionado a maior tempo de manutenção no compartimento intravascular, normalização da perfusão tecidual e boa expansão volêmica (1, 25), seu uso também é relacionado à maior número de eventos adversos (5, 26), incluindo falência renal (5).

Existem diversos trabalhos relacionando o dano isquêmico a alterações da função renal e morfológicas no Rim, durante a reposição volêmica com os diversos fluidos disponíveis no mercado. Alguns trabalhos mostram que o lactato presente na solução de Ringer com lactato é responsável por uma maior injúria ao órgão (9, 17, 18, 19), quando comparado a outras soluções cristalóide isotônicas, enquanto outros demonstram melhora em parâmetros da função renal, tais como normalização do débito urinário e diminuição da creatinina sérica após injúria renal aguda no choque (37). Os piores escores de avaliação de rim foram presentes nos grupos GHA-RL e GHA-NS, que associa o cristalóide isotônico ao hidroxietilamido, também responsável por lesões renais (5, 10). Apesar das observações, alguns autores demonstraram que o uso de colóide atualmente não leva a maior alteração da função renal (25, 49), sendo que as lesões em rins podem ainda ter sido agravadas pelo aumento na inflamação sistêmica causado pela acidose, principalmente em GHA-RL, que poderia ter apresentado maior lesão renal e aumento do estresse oxidativo (3,11), entretanto não foram avaliados aqui mediadores inflamatórios que comprovem tais argumentos. Os demais grupos apresentaram graus leve a moderado de lesões, demonstrando que o modelo de ressuscitação empregado não foi capaz de prevenir possíveis lesões isquêmicas no órgão.

No intestino não foram observadas lesões histopatológicas, isto pode ser explicado pela expansão plasmática observada no tratamento com hidroxietilamido (8, 35) e na melhora da perfusão e microcirculação (35) observada no tratamento com solução salina hipertônica, já que a melhora no fluxo sanguíneo e microcirculação otimiza a oferta de oxigênio aos tecidos, prevenindo lesões por isquemia e reperfusão (41, 42, 49). No presente estudo foram coletadas amostras de intestino delgado em

seu segmento final, cerca de 5 cm de região de íleo, próximo à junção íleo-ceco-cólica, porém em um estudo prévio com porcos submetidos a choque hemorrágico (41), comparando-se os tratamentos e as regiões de intestino delgado coletadas, sugere-se que o duodeno seja mais sensível a lesões isquêmicas no choque hemorrágico, portanto a área coletada para análise poderia ser menos adequada.

Protocolos de ressuscitação utilizando baixos volumes, associando-se coloides ou cristaloides hipertônicos a cristaloides isotônicos, têm sido relacionados a menor lesão tecidual e menor ocorrência de edema intersticial e alveolar (43, 44), isto porque altos volumes provocam mudanças abruptas no volume extracelular e na pressão oncótica, alterando o funcionamento celular (8, 43, 44). Os grupos tratados com solução salina isotônica a 0,9% na fase de manutenção, GSH-NS e GHA-NS, não apresentaram alterações em pulmão, entretanto foram observados resultados diferentes em estudo prévio com solução salina isotônica (43), em que foi relatada presença de células inflamatórias em lavado bronco-alveolar e infiltrado inflamatório moderado. Tal diferença pode ser relacionada a melhora da perfusão e microcirculação relacionadas ao hidroxietilamido e solução salina hipertônica, superiores à ressuscitação com uso isolado de cristaloides isotônicos (26, 25, 35, 37), e o efeito imunomodulatório da solução salina hipertônica (44, 48).

A lesões em fígado foram observadas de forma mais grave com uso de coloide, independente do cristaloides isotônico associado, e também nos grupos com uso de Ringer com lactato como cristaloides isotônicos. As alterações presentes em fígado em GHA-RL, como vacuolização grave, demonstram um início de degeneração celular, e em GSH-RL a vacuolização, condensação nuclear e fragmentação de núcleo juntas demonstram início de apoptose. A isquemia presente no choque leva a ativação de macrófagos, levando a um aumento de mediadores inflamatórios, com consequente aumento de lesões apoptóticas (8, 45, 48). O uso de soluções coloides melhora a perfusão, diminuindo a lesão tecidual relacionada a isquemia (8), porém estudo prévio mostra que o uso de hidroxietilamido tem sido relacionado a resultados piores na ocorrência de lesões, quando comparado à outras soluções coloides naturais e a cristaloides isotônicos balanceados (45).

O uso de Ringer com lactato tem sido contraindicado para pacientes hepatopatas na bula pelos próprios fabricantes das soluções. Tal contraindicação é justificada pela metabolização do lactato pelo fígado, e alguns estudos mostram ainda que o uso de Ringer lactato tem efeitos deletérios a diversos órgãos, incluindo rins e

fígado (9, 17, 18, 19). Esta contraindicação está principalmente relacionada a presença do isômero dextrógeno do lactato presente na solução (18), sendo assim mudanças em sua composição poderiam diminuir as alterações orgânicas.

CONCLUSÃO

Os protocolos de ressuscitação combinada utilizando as soluções colóide de hidroxietilamido 130/0,4 6% ou salina hipertônica a 7,5%, associadas as soluções de Ringer com lactato ou salina isotônica a 0,9% foram eficientes para a reposição volêmica e induziram respostas hemodinâmicas semelhantes para a manutenção da pressão arterial.

O uso de solução de hidroxietilamido 130/0,4 a 6% promoveu maior lesão renal, assim como a ressuscitação utilizando associação de com a solução de Ringer com lactato causou maiores escores de lesão hepática, nas avaliações histopatológicas.

REFERÊNCIAS

1. Gauthier V, Holowaychuk MK, Kerr CL, Bersenas AM, Wood RD. Effect of synthetic colloid administration on hemodynamic and laboratory variables in healthy dogs and dogs with systemic inflammation. *J Vet Emerg Crit Care* 24(3):251-8, 2014.
2. Spinella PC, Holcomb JB. Resuscitation and transfusion principles for traumatic hemorrhagic shock. *Blood Rev* 23(6):231-40, 2009.
3. Aksu U, Bezemer R, Yavuz B, Kandil A, Demirci C, Ince C. Balanced vs unbalanced crystalloid resuscitation in a near-fatal model of hemorrhagic shock and the effects on renal oxygenation, oxidative stress, and inflammation. *Resuscitation* 83(6):767-773, 2012.
4. Skhirtladze K, Base EM, Lassnigg A, Kaider A, Linke S, Dworschak M, Hiesmayr MJ. Comparison of the effects of albumin 5%, hydroxyethyl starch 130/0.4 6%, and Ringer's lactate on blood loss and coagulation after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 112(2):255-264, 2014.
5. Myburgh JA, Finfer S, Bellomo R, Billot L, Cass A, Gattas D, et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N Engl J Med* 367(20):1901-11, 2012.
6. Urbano J, López-Herce J, Solana MJ, del Castillo J, Botrán M, Bellón JM. Comparison of normal saline, hypertonic saline and hypertonic saline colloid resuscitation fluids in an infant animal model of hypovolemic shock. *Resuscitation* 83(9):1159-6, 2012.
7. Huby M, Salsbury J, Baer L, Pawelczyk N, Matijevic N, Wang Y-W, et al. Crystalloid versus colloid resuscitation in a lethal rat model of trauma/hemorrhagic shock. *FASEB J* 26(1):1126.9-9, 2012.
8. Torres LN., Sondeen JL, Ji L, Dubick MA, Torres Filho, I. Evaluation of resuscitation fluids on endothelial glycocalyx, venular blood flow, and coagulation function after hemorrhagic shock in rats. *J Trauma Acute Care Surg* 75(5):759-766, 2013.
9. Rohrig R, Rönn T, Lendemans S, Feldkamp T, de Groot H, Petrat F. Adverse effects of resuscitation with lactated ringer compared with ringer solution after severe hemorrhagic shock in rats. *Shock* 38(2):137-145, 2012.

10. Zarychanski R, Abou-Setta AM, Turgeon AF, Houston BL, McIntyre L, Marshall JC, Fergusson DA. Association of hydroxyethyl starch administration with mortality and acute kidney injury in critically ill patients requiring volume resuscitation: a systematic review and meta-analysis. *Jama* 309(7):678-688, 2013.
11. Zhou F, Peng Z-Y, Bishop JV, Cove ME, Singbartl K, Kellum JA. Effects of fluid resuscitation with 0.9% saline versus a balanced electrolyte solution on acute kidney injury in a rat model of sepsis. *Crit Care Med* 42(4):270-278, 2014.
12. Chimabucuro WK, Junior S, Moretti AIS, Velasco IT, Rios ECS, Soriano FG. The impact of hypertonic and normal saline in gut reperfusion after ischemia in rats. *Rev Bras Ter Intensiva* 26(3):277-286, 2014.
13. Todd SR, Malinoski D, Muller PJ, Schreiber MA. Lactated Ringer's is superior to normal saline in the resuscitation of uncontrolled hemorrhagic shock. *J Trauma Acute Care Surg* 62(3):636-9, 2007.
14. Watters JM, Brundage SI, Todd SR, Zautke NA, Stefater J, Lam J, et al. Resuscitation with lactated Ringer's does not increase inflammatory response in a swine model of uncontrolled hemorrhagic shock. *Shock* 22(3):283-7, 2004.
15. Phillips CR, Vinecore K, Hagg DS, Sawai RS, Differding JA, Watters JM, et al. Resuscitation of haemorrhagic shock with normal saline vs. lactated Ringer's: effects on oxygenation, extravascular lung water and haemodynamics. *Crit care* 13(2):30, 2009;.
16. Wu BU, Hwang JQ, Gardner TH, Repas K, Delee R, Yu S, et al. Lactated Ringer's solution reduces systemic inflammation compared with saline in patients with acute pancreatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 9(8):710-717, 2011.
17. Vega D, Badami CD, Caputo FJ, Watkins AC, Lu Q, Berezina TL, et al. The influence of the type of resuscitation fluid on gut injury and distant organ injury in a rat model of trauma/hemorrhagic shock. *J Trauma Acute Care Surg* 65(2):409-15, 2008.
18. Ayuste EC, Chen H, Koustova E, Rhee P, Ahuja N, Chen Z, et al. Hepatic and pulmonary apoptosis after hemorrhagic shock in swine can be reduced through

modifications of conventional Ringer's solution. *J Trauma Acute Care Surg* 60(1):52-63, 2006.

19. Alam HB, Stanton K, Koustova E, Burris D, Rich N, Rhee P. Effect of different resuscitation strategies on neutrophil activation in a swine model of hemorrhagic shock. *Resuscitation* 60(1):91-99, 2004.

20. Santry HP, Alam HB. Fluid resuscitation: past, present, and the future. *Shock* 33(3):229-41, 2010.

21. Wurlod VA, Howard J, Francey T, Schweighauser A, Adamik KN. Comparison of the in vitro effects of saline, hypertonic hydroxyethyl starch, hypertonic saline, and two forms of hydroxyethyl starch on whole blood coagulation and platelet function in dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 25(4):474-87, 2015.

22. Kobayashi L, Costantini TW, Coimbra R. Hypovolemic shock resuscitation. *Surg Clin North Am* 92(1):1403-1423, 2012.

23. Guerci P, Tran N, Menu P, Losser MR, Meistelman C, Longrois D. Impact of fluid resuscitation with hypertonic-hydroxyethyl starch versus lactated ringer on hemorheology and microcirculation in hemorrhagic shock. *Clin Hemorheol Microcirc* 56(4):301-317, 2014.

24. Bentzer P, Griesdale DE, Boyd J, MacLean K, Sirounis D, Ayas NT. Will this hemodynamically unstable patient respond to a bolus of intravenous fluids?. *Jama* 316(12):1298-1309, 2016.

25. Annane D, Siami S, Jaber S, Martin C, Elatrous S, Declère AD, Trouillet, JL, et al. Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. *Jama* 310(17):1809-1817, 2013.

26. Perel P, Roberts I, Ker K. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. *The Cochrane Library*, 2013.

27. Butler FK, Holcomb JB, Schreiber MA, Kotwal BM, Jenkins DA, Champion HR, Bowling F, et al. Fluid Resuscitation for Hemorrhagic Shock in Tactical Combat Casualty Care: TCCC Guidelines Change. *J Spec Oper Med* 14(3):13-33, 2014.
28. Durusu M, Eryilmaz M, Oztürk G, Menteş O, Ozer T, Deniz T. Comparison of permissive hypotensive resuscitation, low-volume fluid resuscitation, and aggressive fluid resuscitation therapy approaches in an experimental uncontrolled hemorrhagic shock model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 16(3);191-197, 2010.
29. Jin G, Duggan M, Knightly T, Mejaddam AY, Hwabejire J, Lu J, Alam HB. Traumatic brain injury and hemorrhagic shock: evaluation of different resuscitation strategies in a large animal model of combined insults. *Shock* 38(1):49-56, 2012.
30. Hußmann B, Lefering R, Taeger G, Waydhas C, Ruchholtz S, Lendemans S. Influence of prehospital fluid resuscitation on patients with multiple injuries in hemorrhagic shock in patients from the DGU trauma registry. *J Emerg Trauma Shock* 4(4)457:465, 2011.
31. Hu S, Bai XD, Liu XQ, Wang HB, Zhong YX, Fang T, Zhou FQ. Pyruvate ringer's solution corrects lactic acidosis and prolongs survival during hemorrhagic shock in rats. *Emerg Med* 45(6):885–893, 2013.
32. Jiang H et al. Splenectomy ameliorates acute multiple organ damage induced by liver warm ischemia reperfusion in rats. *Surgery*. 141(1):32-40, 2007.
33. Rezende-Neto JB, Rizoli SB, Andrade MV, Lisboa TA, Cunha-Melo JR. Rabbit model of uncontrolled hemorrhagic shock and hypotensive resuscitation. *Braz J Med Biol Res* 43(12);1153-1159, 2010.
34. Chen G, You G, Wang Y, Lu M, Cheng W, Yang J, et al. Effects of synthetic colloids on oxidative stress and inflammatory response in hemorrhagic shock: comparison of hydroxyethyl starch 130/0.4, hydroxyethyl starch 200/0.5, and succinylated gelatin. *Critical Care* 2013;17(4):1-9.
35. Palmer L. Fluid management in patients with trauma: restrictive versus liberal approach. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2016.

36. Palmer L, Martin L. Traumatic coagulopathy-Part 2: Resuscitative strategies. *J Vet Emerg Crit Care* 24(1):75-92, 2014.
37. Tao JP, Huang QQ, Huang HQ, Yang JJ, Shi M, Zhou Y, Yang DG. Effects of goal-directed fluid therapy with different lactated ringer's: hydroxyethyl starch ratios in hemorrhagic shock dogs. *Genet Mol Res* 14(2):6649-6663, 2015.
38. Krebbel H, Feldheiser A, Müller O, Boemke W, Sander M, Perka C, Spies C. Influence of goal-directed therapy with balanced crystalloid–colloid or unbalanced crystalloid solution on base excess. *J Int Med Res* 42(2):468-486, 2014.
39. Pierce JD, Shen Q, Thimmesch A. The ongoing controversy: crystalloids versus colloids. *J Infus Nurs* 39(1):40-44, 2016.
40. Ortiz AL, Vala H, Venâncio C, Mesquita J, Silva A, Gonzalo-Orden JM, Ferreira D. The influence of Ringer's lactate or HES 130/0.4 administration on the integrity of the small intestinal mucosa in a pig hemorrhagic shock model under general anesthesia. *J Vet Emerg Crit Care* 27(1):96–107, 2016.
41. Harrois A, Baudry N, Huet O, Kato H, Dupic L, Lohez M, Duranteau J, et al. Norepinephrine decreases fluid requirements and blood loss while preserving intestinal villi microcirculation during fluid resuscitation of uncontrolled hemorrhagic shock in mice. *Anesthesiology* 122(5):1093-1102, 2015.
42. Yu TC, Yang FL, Hsu BG, Wu WT, Chen SC, Lee RP, Subeq YM. Deleterious effects of aggressive rapid crystalloid resuscitation on treatment of hyperinflammatory response and lung injury induced by hemorrhage in aging rats. *J Surg Res* 187(2):587-595, 2014.
43. Pascual JL, Khwaja KA, Ferri LE, Giannias B, Evans DC, Razek T, et al. Hypertonic saline resuscitation attenuates neutrophil lung sequestration and transmigration by diminishing leukocyte-endothelial interactions in a two-hit model of hemorrhagic shock and infection. *J Trauma* 54(1):121-132, 2003.
45. Li Y, Guo M, Shen J, Zheng L, Wang J, Wang P, Li J. Limited fluid resuscitation attenuates lung and intestine injury caused by hemorrhagic shock in rats. *J Invest Surg* 27(2):81-87, 2014.

45. Cheng Q, Yang G, Ma J, Li J, Shan Q. Effects of different types of fluid resuscitation on hepatic mitochondria and apoptosis. *Exp Ther Med* 7(2):335-342, 2014.
46. J Xu, L Ma, S Sun, X Lu, X Wu, Z Li, W Tang. Fluid resuscitation guided by sublingual partial pressure of carbon dioxide during hemorrhagic shock in a porcine model. *Shock* 39(4):361-365, 2013.
47. Chakraborty A, Kumar A, Yadav SC, Kumar L, Bisoi AK, Chauhan S, Airan B. A comparison of ringer's lactate with Acetate & maleate containing crystalloid for priming in adult patients undergoing Cardiopulmonary Bypass. *Indian Journal of Extra-Corporeal Technology*, 24(1):7-12, 2015.
48. Gonzalez EA, Kozar RA, Suliburk JW, Weisbrodt NW, Mercer DW, Moore FA. Conventional dose hypertonic saline provides optimal gut protection and limits remote organ injury after gut ischemia reperfusion. *J Trauma Acute Care Surg* 61(1):66-74, 2006.
49. Raiman M, Mitchell CG, Biccand BM, Rodseth RN. Comparison of hydroxyethyl starch colloids with crystalloids for surgical patients: A systematic review and meta-analysis. *Euro J of Anaest* 33(1):42-48, 2016.

ANEXO I – Tabelas de Parâmetros avaliados

TABELA 1 - Média \pm Desvio padrão de frequência cardíaca (FC) ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₃₀	T₆₀	T₉₀	T₁₂₀
GSH-NS	375 ± 14	419 ± 28	397 ± 18	389 ± 26	391 ± 22	388 ± 9	377 ± 24
GSH-RL	360 ± 24	385 ± 47	359 ± 24	364 ± 30	375 ± 30	372 ± 35	371 ± 16
GHA-NS	374 ± 17	403 ± 19	388 ± 23	392 ± 26	377 ± 29	387 ± 12	369 ± 12
GHA-RL	386 ± 18	412 ± 30	409 ± 38	391 ± 26	381 ± 26	394 ± 38	384 ± 14

TABELA 2 - Média \pm Desvio padrão de frequência respiratória (*f*) ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₃₀	T₆₀	T₉₀	T₁₂₀
GSH-NS	79 ± 18	78 ± 12	82 ± 15	80 ± 12	86 ± 21	86 ± 20	67 ± 11
GSH-RL	88 ± 13	77 ± 11	84 ± 17	81 ± 17	86 ± 13	92 ± 16	80 ± 15
GHA-NS	75 ± 12	72 ± 5	83 ± 19	74 ± 10	78 ± 9	76 ± 13	76 ± 17
GHA-RL	77 ± 16	74 ± 17	81 ± 16	81 ± 14	83 ± 13	69 ± 17	74 ± 15

TABELA 3 - Média \pm Desvio padrão de pressão arterial média (PAM) ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T _{basal}	T _{choque}	T _{res}	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
GSH-NS	102 ^b ± 20	46 ^a ± 4	90 ^b ± 25	80 ^b ± 22	72 ^{Ab} ± 12	60 ^{Ba} ± 17	62 ^{Aa} ± 23
GSH-RL	118 ^b ± 29	47 ^a ± 6	93 ^b ± 24	96 ^b ± 21	85 ^{Ab} ± 16	73 ^{Ab} ± 21	63 ^{Aa} ± 21
GHA-NS	101 ^b ± 17	42 ^a ± 3	109 ^b ± 9	87 ^b ± 22	82 ^{Ab} ± 3	74 ^{Aa} ± 7	72 ^{Ba} ± 6
GHA-RL	121 ^b ± 21	47 ^a ± 7	119 ^b ± 13	85 ^b ± 21	62 ^{Ba} ± 19	41 ^{Ba} ± 22	57 ^{Aa} ± 25

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos
Letras maiúsculas significam diferenças entre grupos

TABELA 4 - Média \pm Desvio padrão de temperatura (T°C) ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T _{basal}	T _{choque}	T _{res}	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
GSH-NS	38,4 $\pm 0,8$	38,3 $\pm 0,5$	37,9 $\pm 0,8$	38,0 $\pm 0,7$	38,1 $\pm 1,3$	38,4 $\pm 1,7$	37,0 $\pm 1,4$
GSH-RL	37,2 $\pm 0,7$	37,2 $\pm 1,2$	37,7 $\pm 1,7$	37,3 $\pm 1,8$	37,5 $\pm 1,9$	37,8 $\pm 2,1$	37,3 $\pm 2,5$
GHA-NS	37,4 $\pm 0,6$	37,8 $\pm 0,8$	38,3 $\pm 0,6$	38,7 $\pm 0,8$	38,8 $\pm 0,4$	38,2 $\pm 0,4$	37,8 $\pm 0,7$
GHA-RL	38,1 $\pm 0,7$	37,5 $\pm 0,5$	37,6 $\pm 0,9$	38,4 $\pm 0,9$	38,9 $\pm 0,7$	38,1 $\pm 0,9$	37,8 $\pm 1,2$

TABELA 5 - Média \pm Desvio padrão de gás carbônico ao fim da expiração (EtCO₂) ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T _{basal}	T _{choque}	T _{res}	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
GSH-NS	25,5 ^a ±3,5	20,5 ^a ±4,4	20,9 ^a ±5,6	19,1 ^a ±5,6	19,5 ^a ±6,4	15,7 ^b ±5,1	18,6 ^b ±4,5
GSH-RL	26,1 ^a ±6,3	18,6 ^a ±3,2	19,6 ^a ±3,6	19,1 ^a ±3,7	19,3 ^a ±4,0	15,5 ^b ±3,7	15,4 ^b ±3,7
GHA-NS	24,8 ±2,8	20,4 ±4,3	25,1 ±4,4	24,1 ±7,4	25,3 ±10,5	23,5 ±10,2	22,5 ±7,6
GHA-RL	24,1 ^a ±4,8	18,6 ^{bc} ±4,1	24,6 ^a ±4,1	21,8 ^{ab} ±5,9	19,8 ^{bc} ±6,8	16,0 ^c ±8,1	19,8 ^b ±8,3

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 6 - Média \pm Desvio padrão de pH ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T _{basal}	T _{choque}	T _{res}	T ₆₀	T ₁₂₀
GSH-NS	7,38 ^a ±0,03	7,34 ^a ±0,15	7,24 ^{Aa} ±0,23	7,27 ^a ±0,27	7,16 ^{Bb} ±0,22
GSH-RL	7,40 ±0,08	7,38 ±0,08	7,32 ^A ±0,11	7,38 ±0,11	7,20 ^A ±0,31
GHA-NS	7,41 ±0,03	7,35 ±0,02	7,34 ^A ±0,06	7,34 ±0,19	7,41 ^A ±0,03
GHA-RL	7,42 ^a ±0,03	7,28 ^b ±0,08	7,17 ^{Bb} ±0,10	7,31 ^a ±0,14	7,18 ^{Bb} ±0,22

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

Letras maiúsculas significam diferenças entre grupos

TABELA 7 - Média \pm Desvio padrão de pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂) em mmHg ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	37,9 $\pm 4,4$	23,9 $\pm 5,3$	26,8 $\pm 5,0$	32,7 $\pm 14,0$	32,4 $\pm 11,7$
GSH-RL	37,5 ^a $\pm 9,1$	25,6 ^{ab} $\pm 6,0$	28,4 ^{ab} $\pm 3,8$	22,1 ^{bc} $\pm 7,5$	29,6 ^{ab} $\pm 9,0$
GHA-NS	35,5 $\pm 3,4$	27,8 $\pm 7,1$	37,4 $\pm 9,4$	33,7 $\pm 10,5$	30,1 $\pm 8,0$
GHA-RL	37,4 ^a $\pm 2,8$	24,2 ^{bc} $\pm 7,8$	32,1 ^{ab} $\pm 5,9$	30,1 ^{ab} $\pm 9,3$	40,8 ^a $\pm 10,7$

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 8 - Média \pm Desvio padrão de pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂) em mmHg ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	219 ± 66	327 ± 96	307 ± 90	314 ± 124	244 ± 95
GSH-RL	293 ± 91	340 ± 62	328 ± 109	248 ± 109	328 ± 115
GHA-NS	233 ± 77	326 ± 100	310 ± 122	268 ± 109	322 ± 60
GHA-RL	206,0 $\pm 92,8$	259,8 $\pm 89,4$	296,9 $\pm 46,3$	200,8 $\pm 88,2$	224,2 $\pm 87,7$

TABELA 9 - Média \pm Desvio padrão de saturação arterial de oxigênio (sO₂) em porcentagem ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	99,5 $\pm 0,6$	99,9 $\pm 0,1$	99,7 $\pm 0,5$	99,8 $\pm 0,3$	97,8 $\pm 4,2$
GSH-RL	98,5 $\pm 2,8$	99,8 $\pm 0,4$	99,7 $\pm 0,5$	99,3 $\pm 1,2$	97,0 $\pm 5,6$
GHA-NS	99,3 $\pm 0,4$	99,6 $\pm 0,5$	99,7 $\pm 0,4$	99,7 $\pm 0,4$	99,6 $\pm 0,5$
GHA-RL	99,1 $\pm 1,0$	99,6 $\pm 0,4$	99,8 $\pm 0,1$	98,7 $\pm 1,4$	94,6 $\pm 11,3$

TABELA 10 - Média \pm Desvio padrão de bicarbonato (HCO³⁻) em mmol/L ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	22,2 ^a $\pm 2,0$	13,4 $\pm 4,8$	12,0 $\pm 4,3$	14,3 $\pm 5,4$	11,3 $\pm 3,5$
GSH-RL	24,7 ^a $\pm 3,2$	15,5 $\pm 4,2$	14,9 $\pm 3,6$	12,8 $\pm 4,0$	12,2 $\pm 4,6$
GHA-NS	22,5 $\pm 3,3$	15,4 ^a $\pm 4,5$	17,8 $\pm 5,0$	18,3 $\pm 5,4$	18,8 $\pm 4,0$
GHA-RL	24,2 ^a $\pm 2,4$	11,6 $\pm 4,5$	12,2 $\pm 4,3$	16,0 $\pm 6,8$	15,6 $\pm 6,0$

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 11 - Média \pm Desvio padrão de déficit de bases (BE) em mmol/L ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	-2,5 ^a	-12,1	-11,7	-8,4	-19,9
	$\pm 1,5$	$\pm 6,7$	$\pm 3,4$	$\pm 4,5$	$\pm 3,4$
GSH-RL	-1,9	-9,7	-12,2	-12,4	-8,5
	$\pm 2,2$	$\pm 5,2$	$\pm 5,0$	$\pm 4,9$	$\pm 3,1$
GHA-NS	-2,1 ^a	-9,9 ^a	-6,2	-4,3	-5,6
	$\pm 3,8$	$\pm 5,0$	$\pm 4,6$	$\pm 2,9$	$\pm 3,4$
GHA-RL	-0,3 ^a	-15,0	-14,9	-7,1	-5,2
	$\pm 2,8$	$\pm 5,2$	$\pm 4,8$	$\pm 6,3$	$\pm 2,8$

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 12 - Média \pm Desvio padrão de cloreto (Cl⁻) em mmol/L ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	105,5	107,7	122,8	122,9	130,7 ^a
	$\pm 5,0$	$\pm 2,2$	$\pm 1,6$	$\pm 7,2$	$\pm 11,9$
GSH-RL	103,8 ^{ab}	106,7 ^{bc}	117,4 ^{ac}	115,9 ^{ac}	119,0 ^{ac}
	$\pm 4,0$	$\pm 3,0$	$\pm 6,3$	$\pm 6,1$	$\pm 7,6$
GHA-NS	117,0	114,0	116,9	119,5	120,1
	$\pm 6,9$	$\pm 6,4$	$\pm 5,2$	$\pm 5,1$	$\pm 6,4$
GHA-RL	110,2	112,8	115,2	116,2	117,3
	$\pm 4,9$	5,4 \pm	$\pm 6,1$	$\pm 5,8$	$\pm 6,8$

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 13 - Média \pm Desvio padrão de sódio (Na^+) em mmol/L ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T _{basal}	T _{choque}	T _{res}	T ₆₀	T ₁₂₀
GSH-NS	142,6 ^a	145,2 ^{Aa}	155,6 ^{Aa}	154,4 ^A	152,5 ^{Aa}
	$\pm 6,4$	$\pm 3,4$	$\pm 4,4$	$\pm 7,0$	$\pm 5,3$
GSH-RL	144,2	139,9 ^a	155,8 ^{Aa}	149,0 ^{BA}	150,8 ^{BA}
	$\pm 4,8$	$\pm 4,2$	$\pm 6,3$	$\pm 6,3$	$\pm 5,3$
GHA-NS	146,9 ^a	139,8 ^a	142,2 ^{AC}	146,7 ^{BA}	145,6 ^{BA}
	$\pm 4,9$	$\pm 4,0$	$\pm 4,2$	$\pm 4,8$	$\pm 2,9$
GHA-RL	137,9	134,9	136,7 ^{BC}	139,6 ^B	137,1 ^B
	$\pm 6,3$	$\pm 6,0$	$\pm 3,2$	$\pm 5,3$	$\pm 6,7$

Letras maiúsculas significam diferenças entre grupos
Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 14 - Média \pm Desvio padrão de potássio (K^+) em mmol/L ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T _{basal}	T _{choque}	T _{res}	T ₆₀	T ₁₂₀
GSH-NS	4,5 ^b	5,3 ^b	4,6 ^b	6,3 ^{ab}	8,0 ^a
	$\pm 0,6$	$\pm 0,8$	$\pm 0,8$	$\pm 1,9$	$\pm 1,6$
GSH-RL	7,0	5,4	4,2	4,9	8 ^a
	$\pm 5,3$	$\pm 0,8$	$\pm 0,7$	$\pm 0,5$	$\pm 3,9$
GHA-NS	3,6	4,7	4,3	5,0	4,5
	$\pm 0,3$	$\pm 0,4$	$\pm 0,4$	$\pm 1,5$	$\pm 0,3$
GHA-RL	4,3 ^c	5,1	4,0 ^c	4,9 ^{ac}	5,9 ^{ab}
	$\pm 0,3$	$\pm 0,9$	$\pm 0,5$	$\pm 1,3$	$\pm 1,7$

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

TABELA 15 - Média \pm Desvio padrão dos valores de hematócrito em porcentagem ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T_{res}	T₆₀	T₁₂₀
GSH-NS	44	36	30	29	28
	± 3	± 5	± 6	± 5	± 5
GSH-RL	44	37	30	29	28
	± 2	± 4	± 4	± 3	± 3
GHA-NS	44	37	30	30	30
	± 3	± 3	± 6	± 4	± 5
GHA-RL	44	36	29	28	32
	± 4	± 5	± 5	± 6	± 4

Tabela 16 - Média \pm Desvio padrão dos valores de lactato em mmol/L, ao longo dos tempos de avaliação nos grupos GSH-NS, GSH-RL, GHA-NS e GHA-RL.

	T_{basal}	T_{choque}	T₁₂₀
GSH-NS	1,6	8,4	4,3
	$\pm 0,3$	$\pm 0,9$	$\pm 0,5$
GSH-RL	3,6 ^a	10,0 ^b	9,5 ^b
	$\pm 1,5$	$\pm 1,6$	$\pm 2,7$
GHA-NS	1,8	6,1	4,2
	$\pm 0,9$	$\pm 2,4$	$\pm 2,2$
GHA-RL	3,3 ^a	10,7 ^b	8,2 ^b
	$\pm 0,4$	$\pm 3,7$	$\pm 3,5$

Letras minúsculas significam diferenças entre tempos

ANEXO II – Avaliações histopatológicas

1. Avaliação de Rim

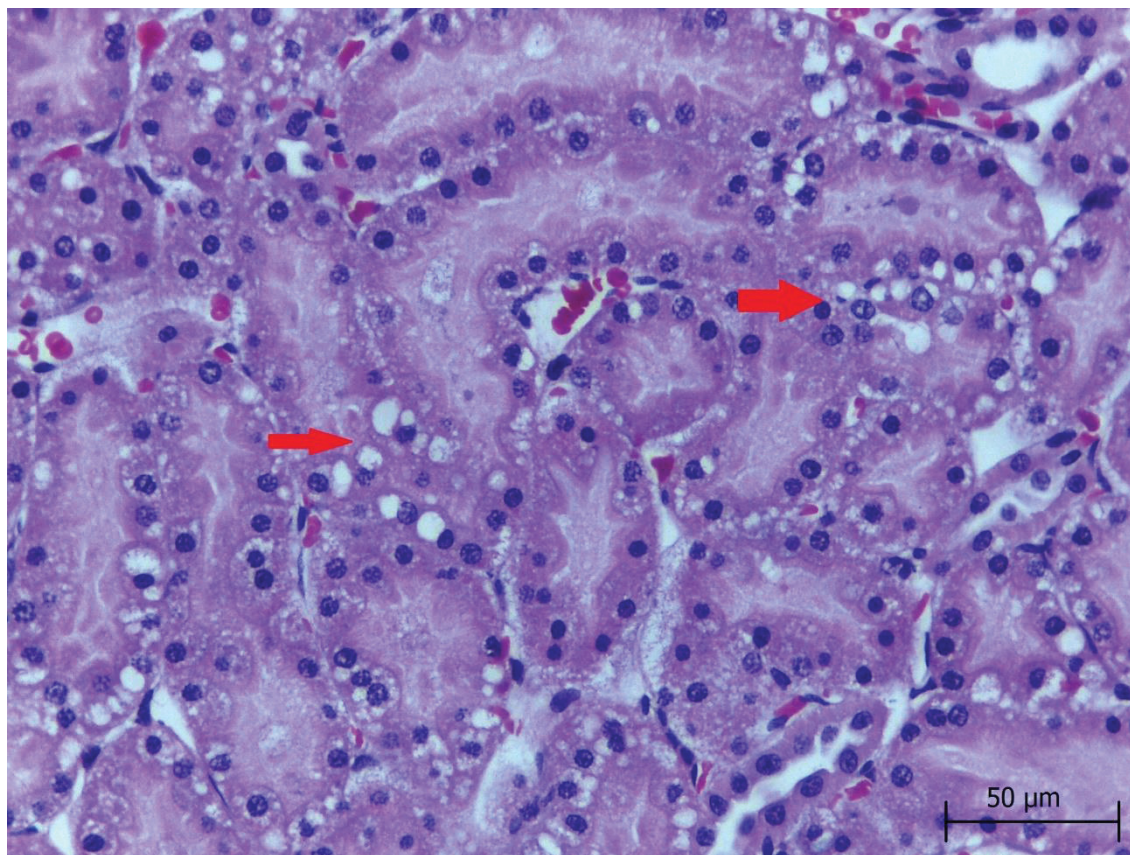


Fig. 1: Avaliação de corte histológico em rim com vacuolização grave, dispersa em todo o campo. No detalhe, setas vermelhas indicam os vacúolos citoplasmáticos.

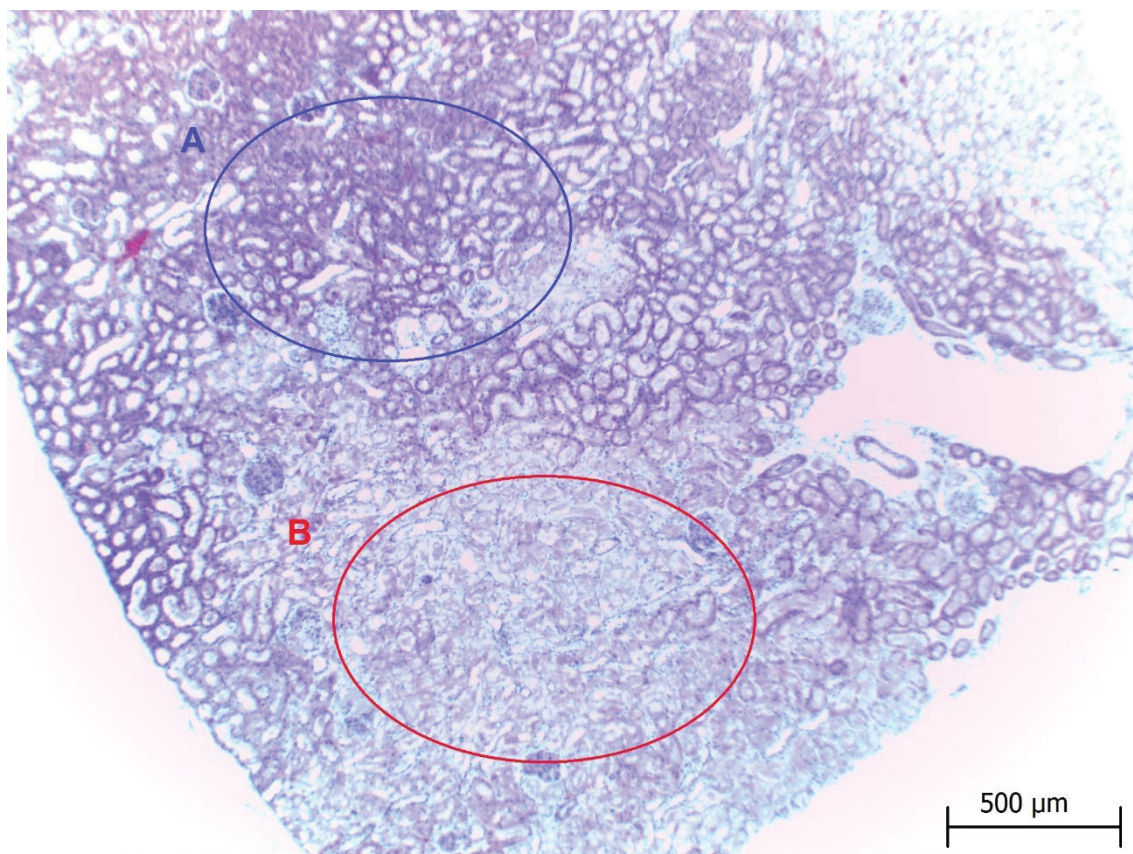


Fig. 2: Avaliação de corte histológico em rim apresentando edema tubular grave, disperso por todo o campo. No detalhe, a região circulada em azul, chamada de A, evidencia a área sem edema e região circulada em vermelho, chamada de B, indica a área com ocorrência de edema tubular.

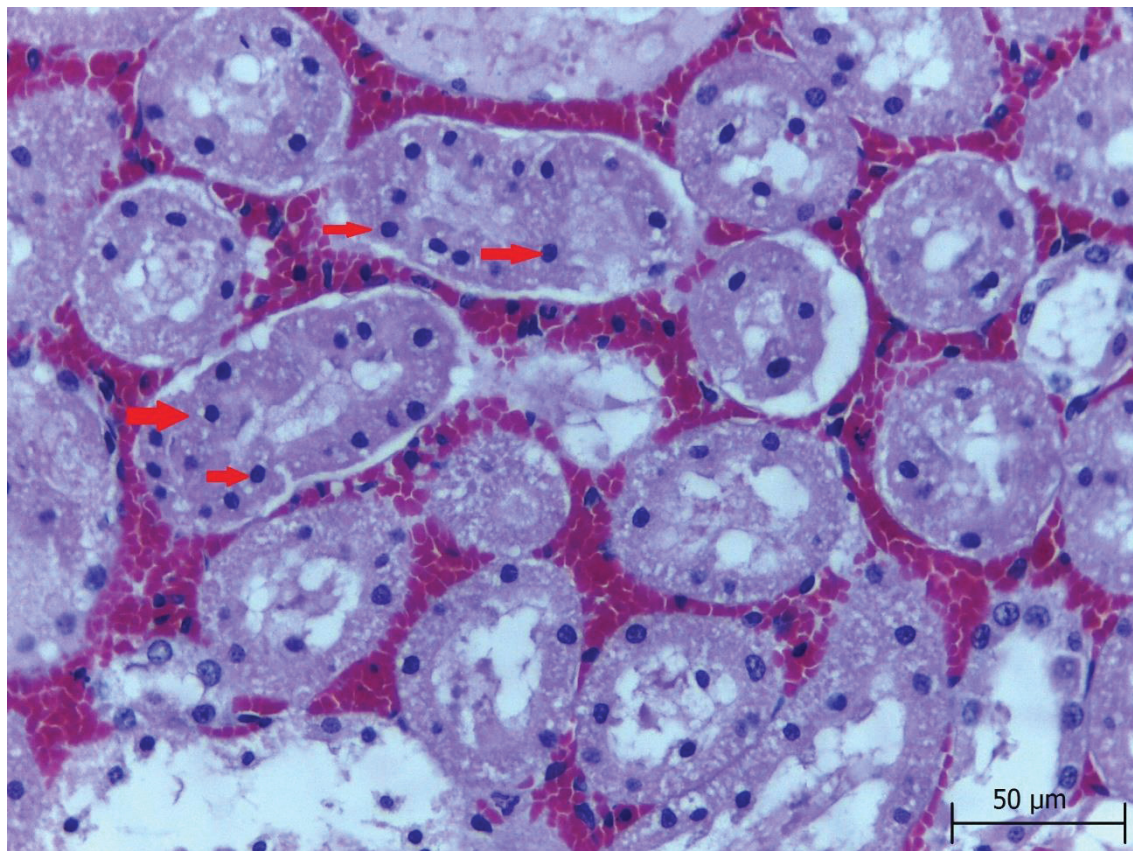


Fig. 3: Avaliação de corte histológico em rim com congestão grave e presença de células com núcleo picnótico (setas vermelhas).

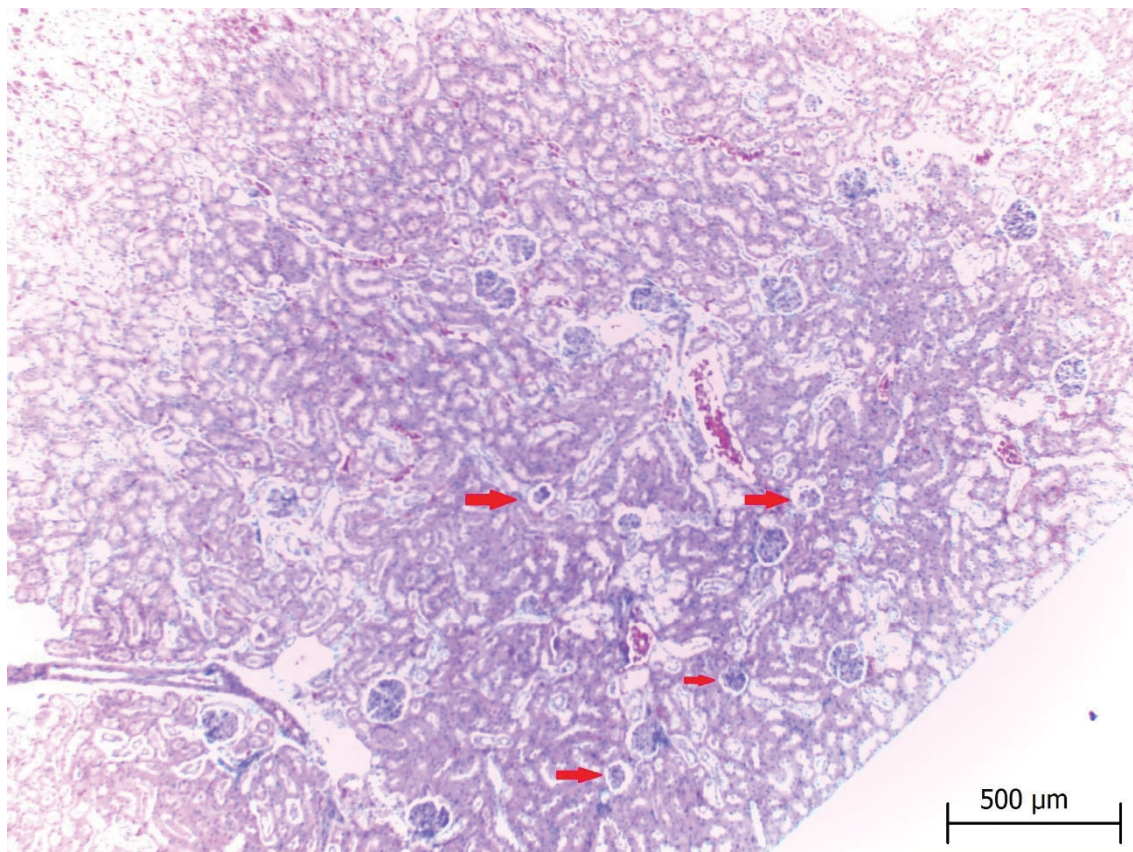


Fig. 4: Avaliação de corte histológico em rim com presença de glomérulos encolhidos (setas).

2. Avaliação de pulmão

Fig. 5: Corte histológico de pulmão íntegro e sem lesões.

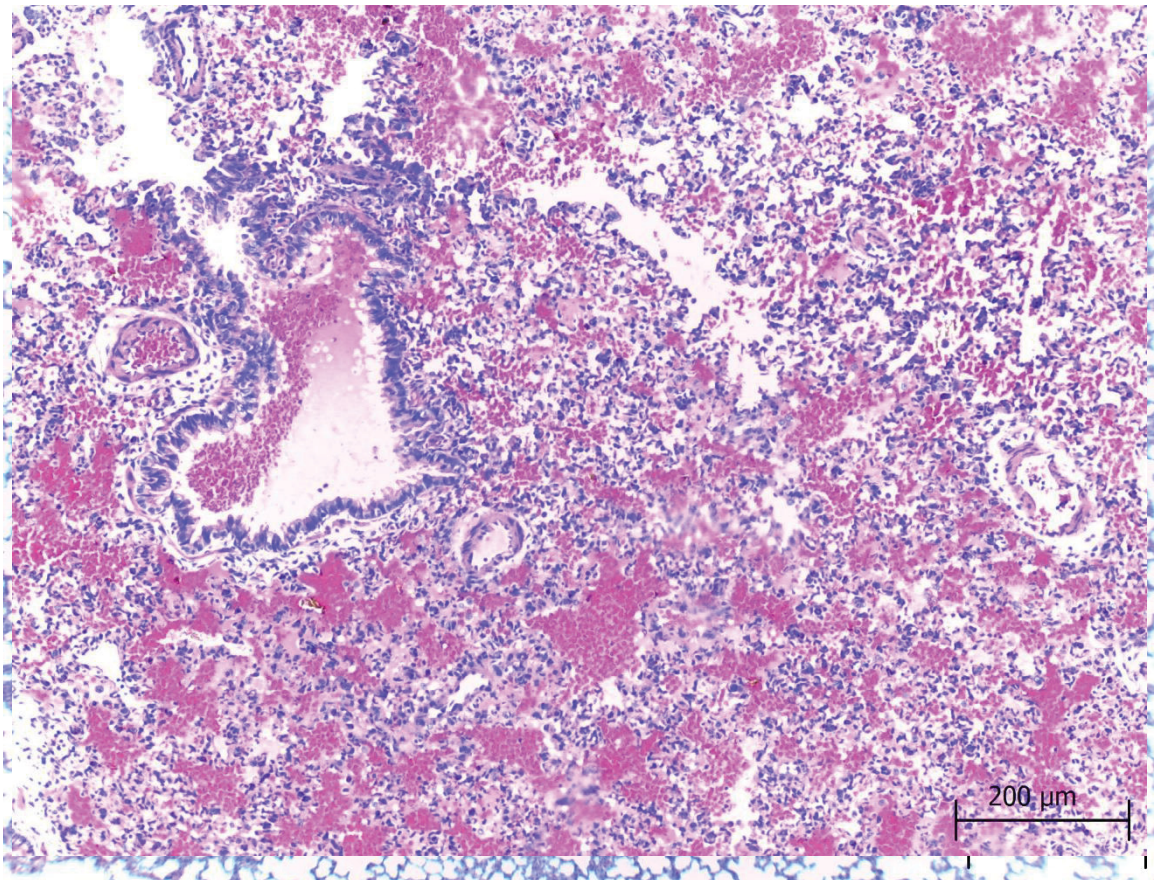


Fig. 6: Corte histológico de pulmão com congestão grave. Presença de hemácias em capilares e vasos pulmonares.

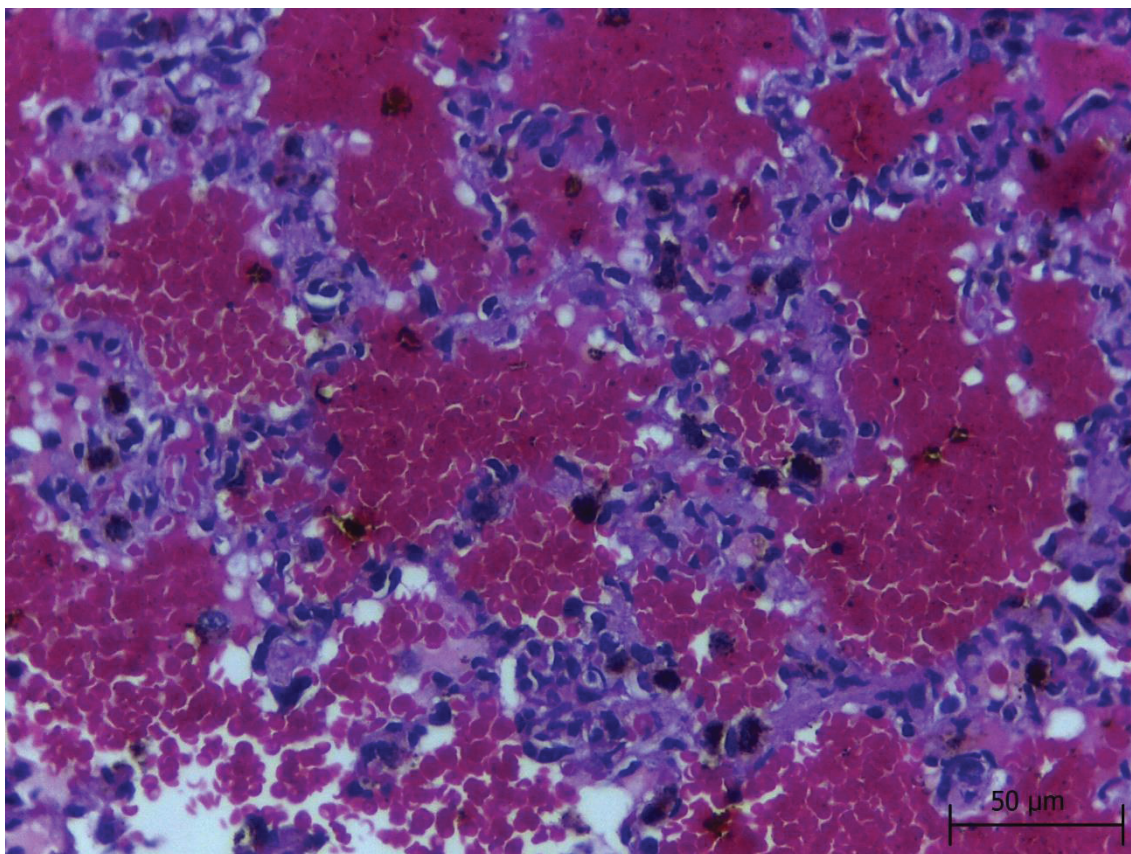
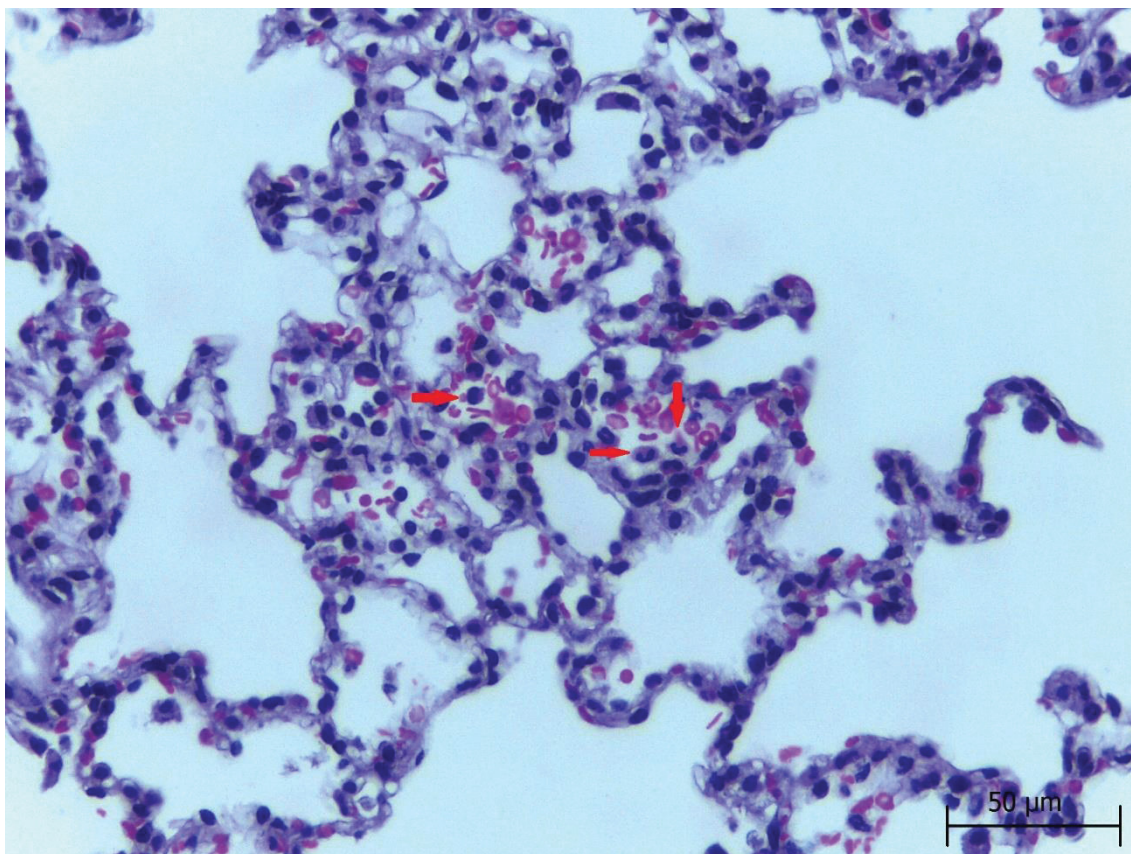


Fig. 7: Corte histológico de pulmão com hemorragia alveolar grave, caracterizada por presença maciça de hemácias no interior de alvéolos.



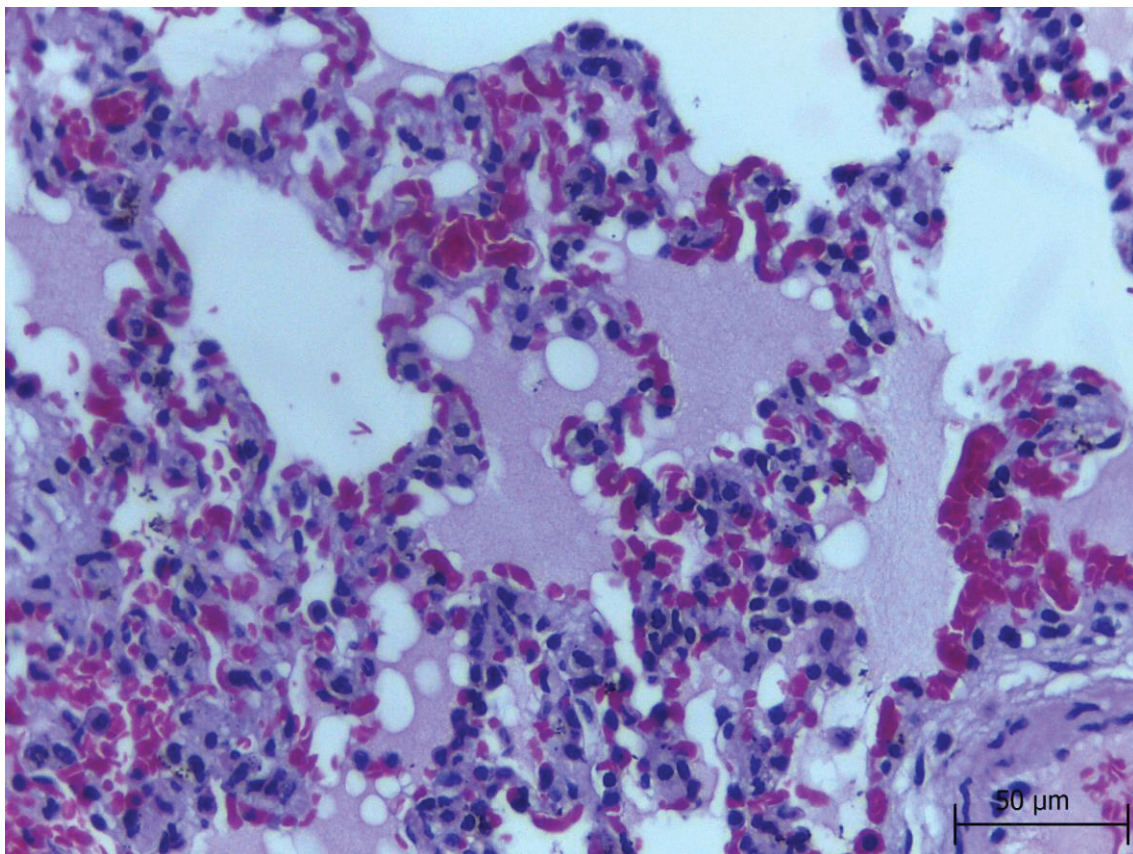


Fig. 8: Corte histológico de pulmão apresentando infiltrado inflamatório discreto. No detalhe presença de neutrófilos no interior de um vaso (setas vermelhas).

Fig. 9: Corte histológico de pulmão com edema alveolar grave, caracterizado por presença de substância hialina no interior dos alvéolos.

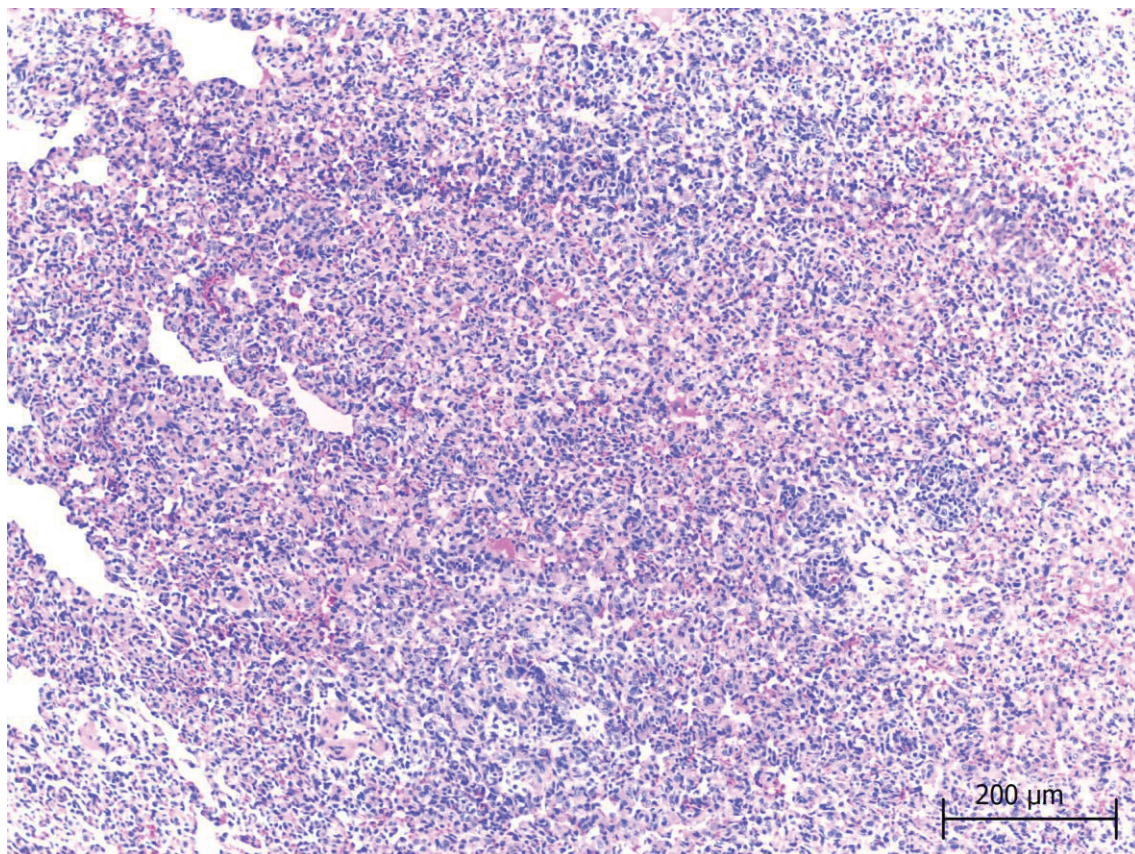


Fig. 10: Corte histológico de pulmão, com atelectasia grave. Não é possível observar abertura de alvéolos no corte.

3. Avaliação de fígado

Fig. 11: Corte histológico de lobo hepático, com vacuolização grave dispersa por toda a lâmina

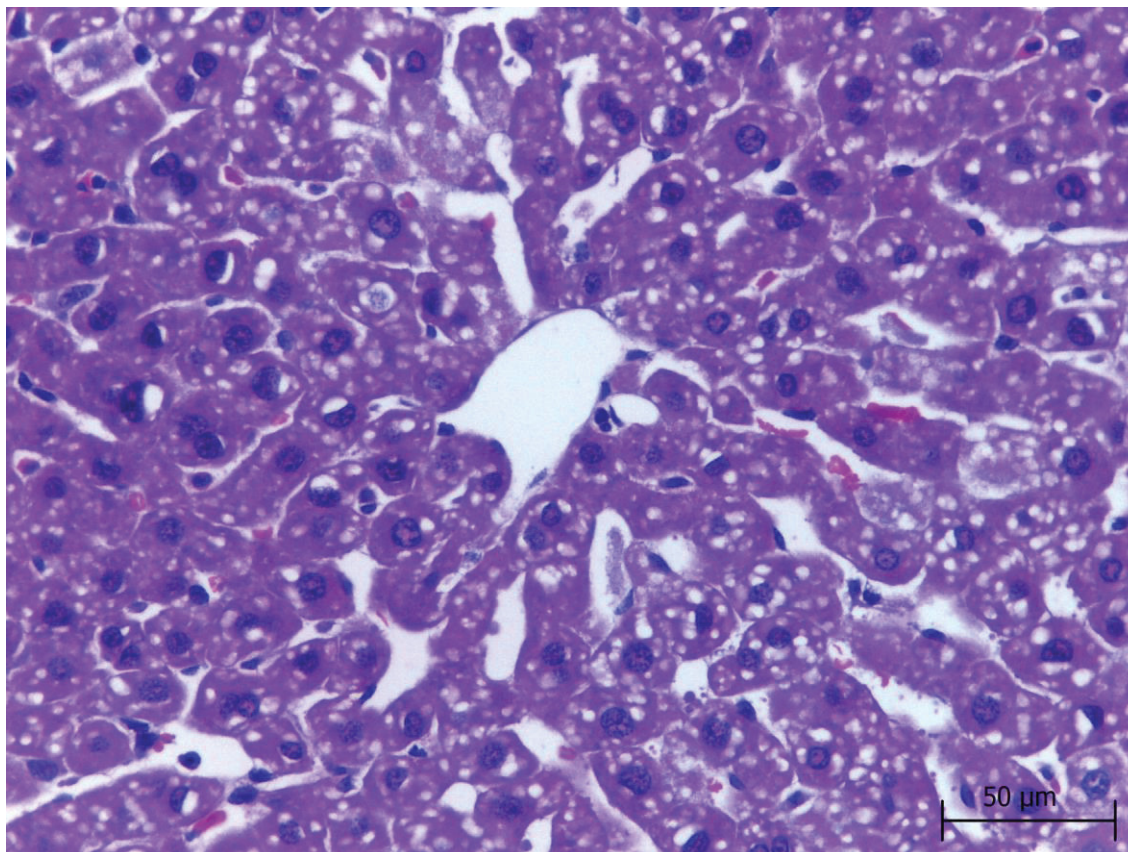


Fig. 12: Corte histológico de lobo hepático. Imagem (A): representação de descoloração citoplasmática ao redor de vasos hepáticos. Imagem (B): representação de descoloração citoplasmática grave.

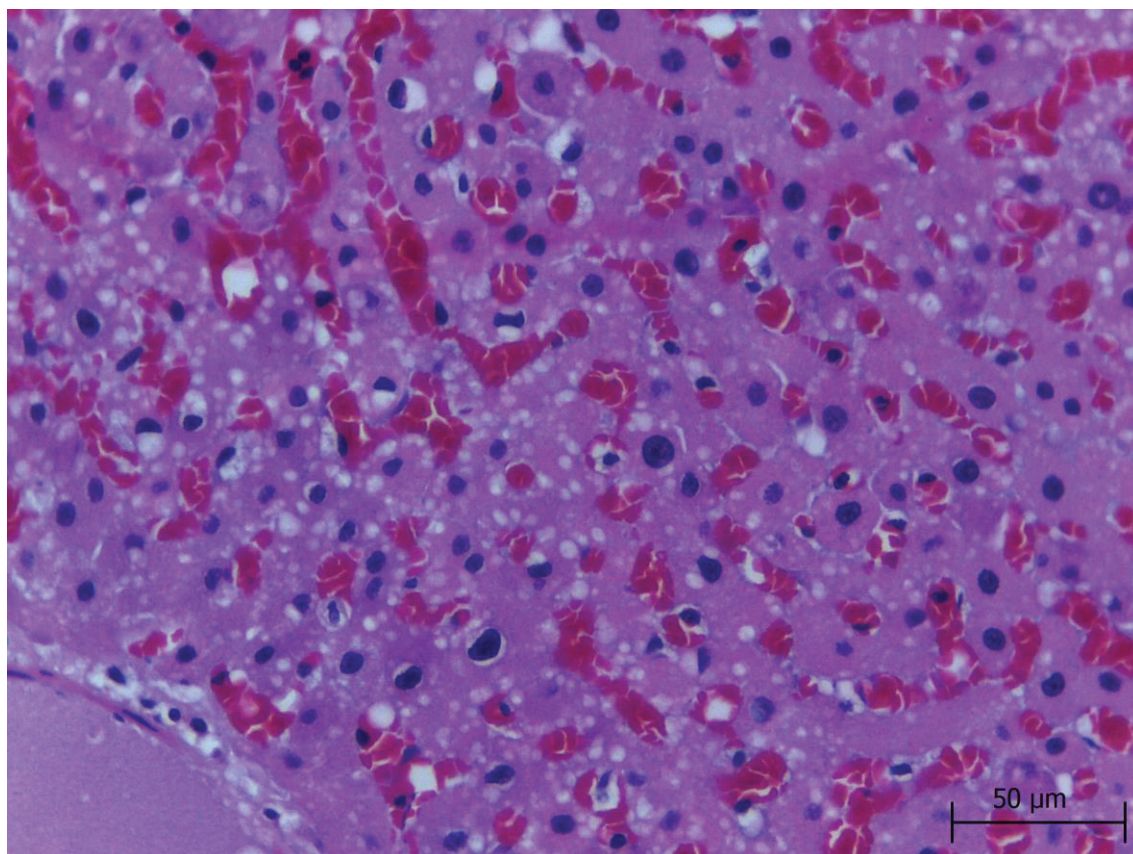
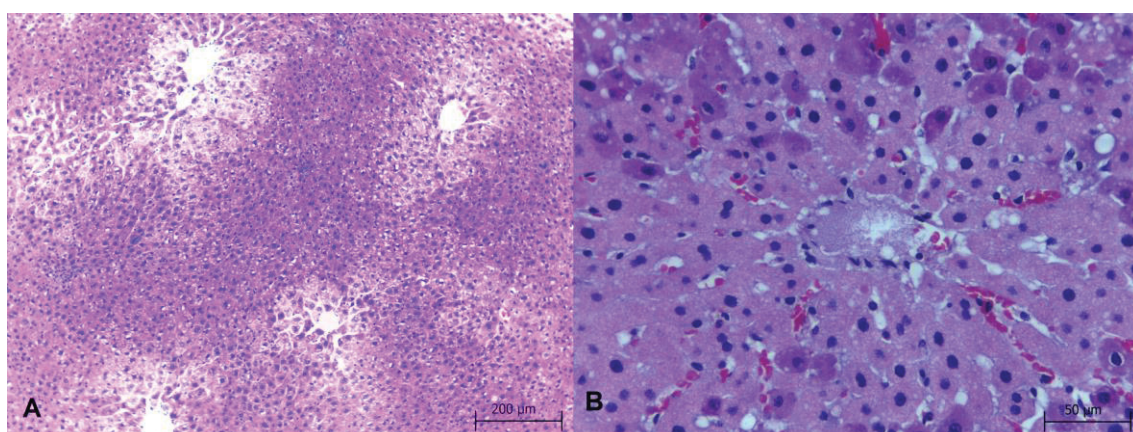


Fig. 13: Corte histológico de lobo hepático apresentando estase de eritrócitos grave, caracterizada pela presença de células e engurgitamento dos capilares hepáticos.



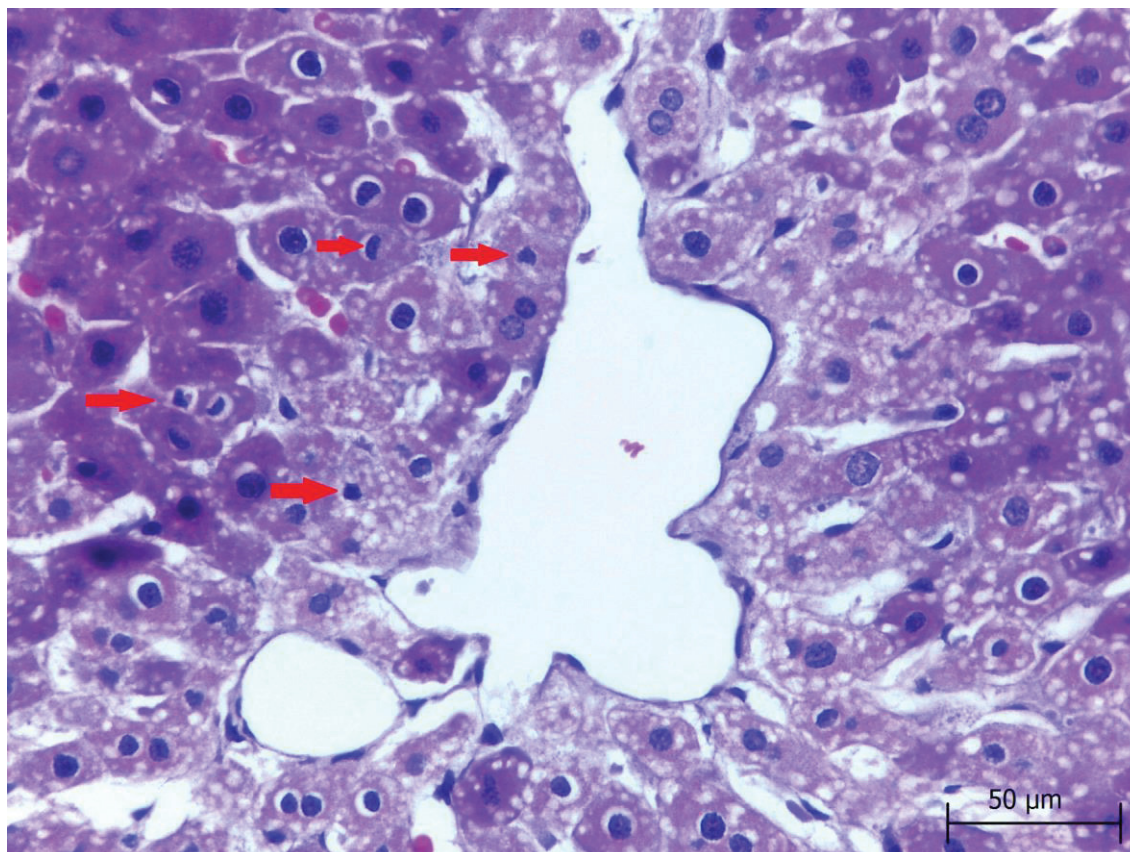


Fig. 14: Corte histológico de lobo hepático. No detalhe células com condensação nuclear (seta vermelha).

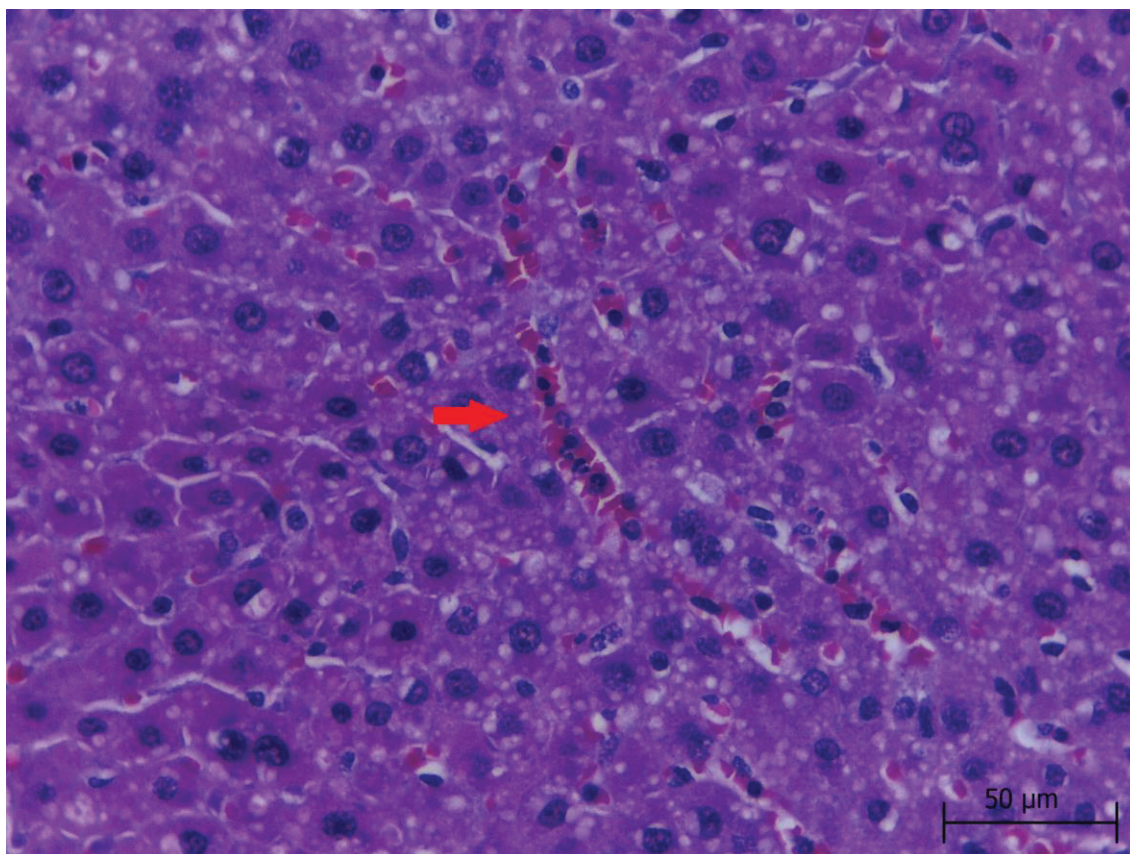


Fig. 15: Corte histológico de lobo hepático com infiltrado inflamatório. No detalhe ao centro da imagem (seta vermelha) vaso sanguíneo com presença de neutrófilos e linfócitos.

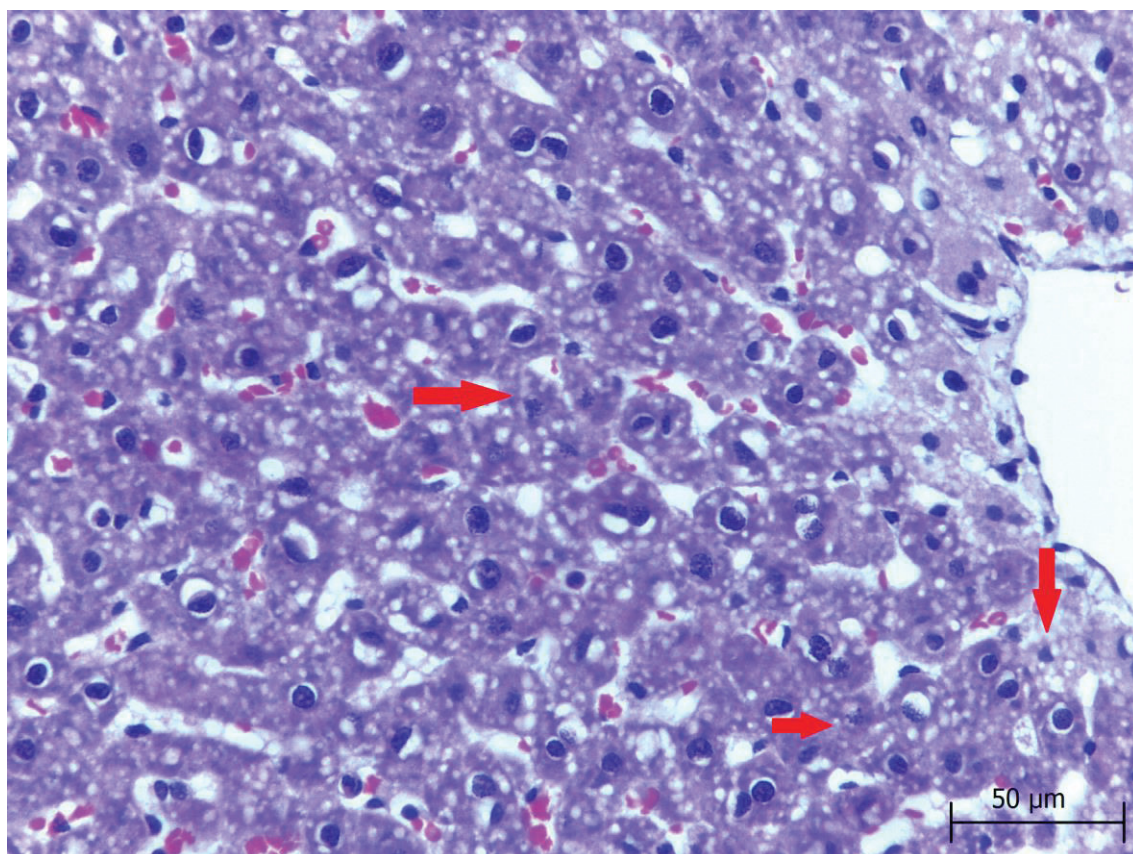
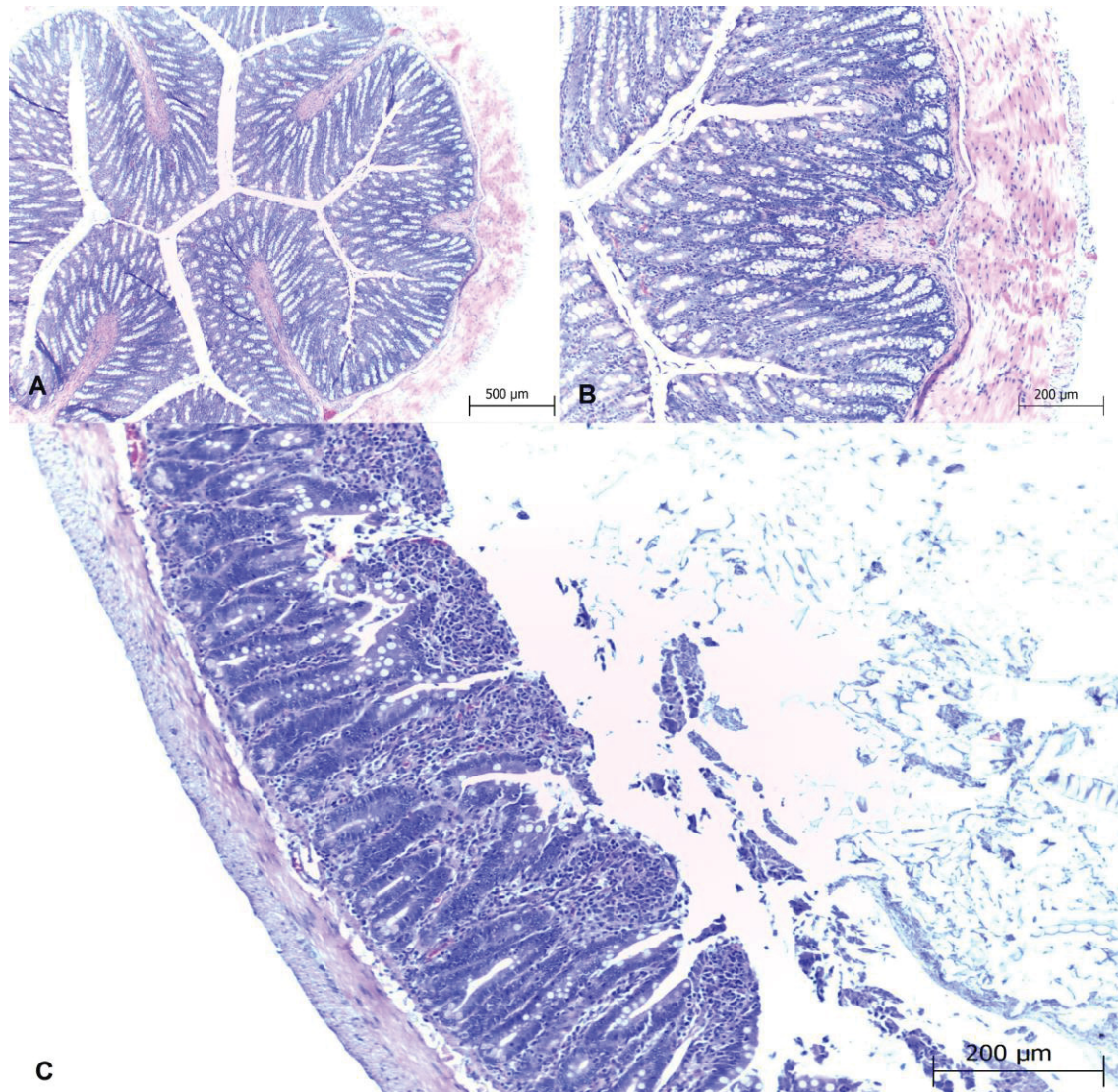


Fig. 16: Corte histológico de lobo hepático com presença moderada de núcleos fragmentados (setas vermelhas).

4. Avaliação de Intestino

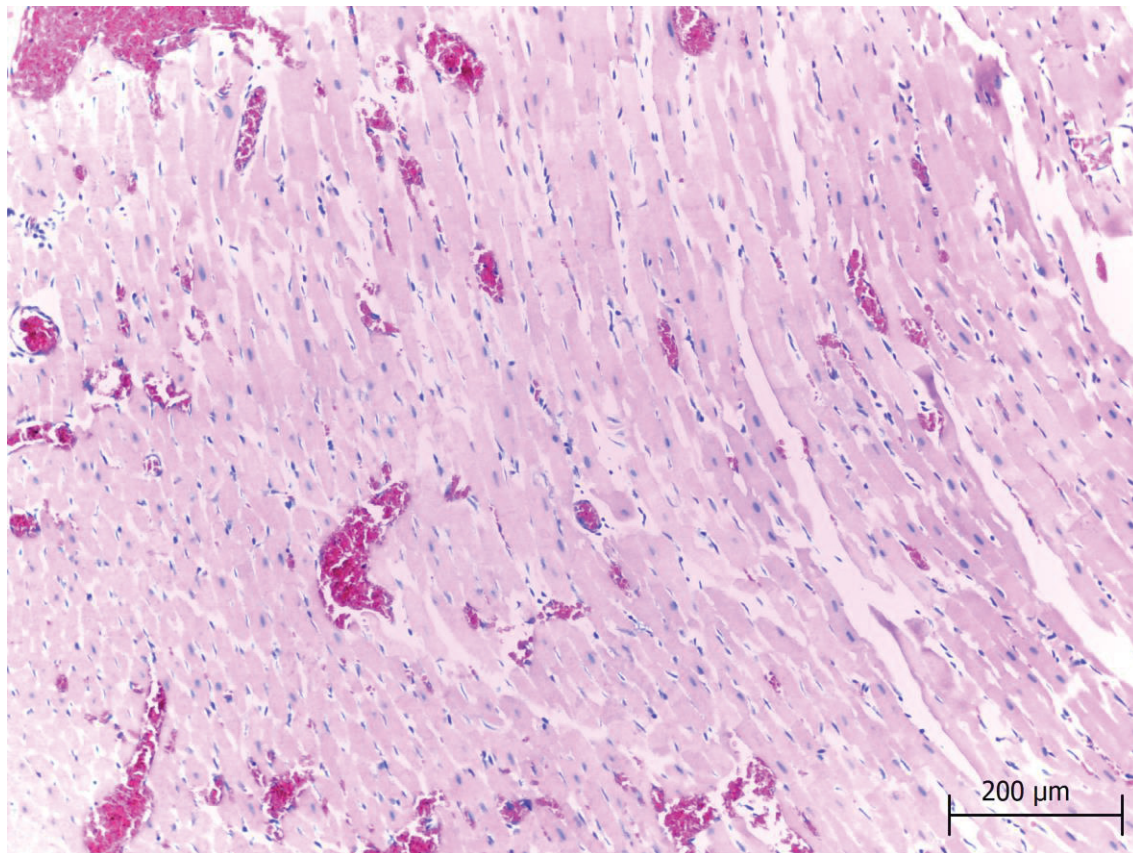
Fig. 17: Cortes histológicos de intestino íntegro e sem lesões. Imagens A, B e C em



C
diferentes escalas.

5. Avaliação de coração

Fig. 18: Corte histológico de coração com congestão leve. Congestão caracterizada



por ingurgitamento de vasos e presença de hemácias em seu interior.

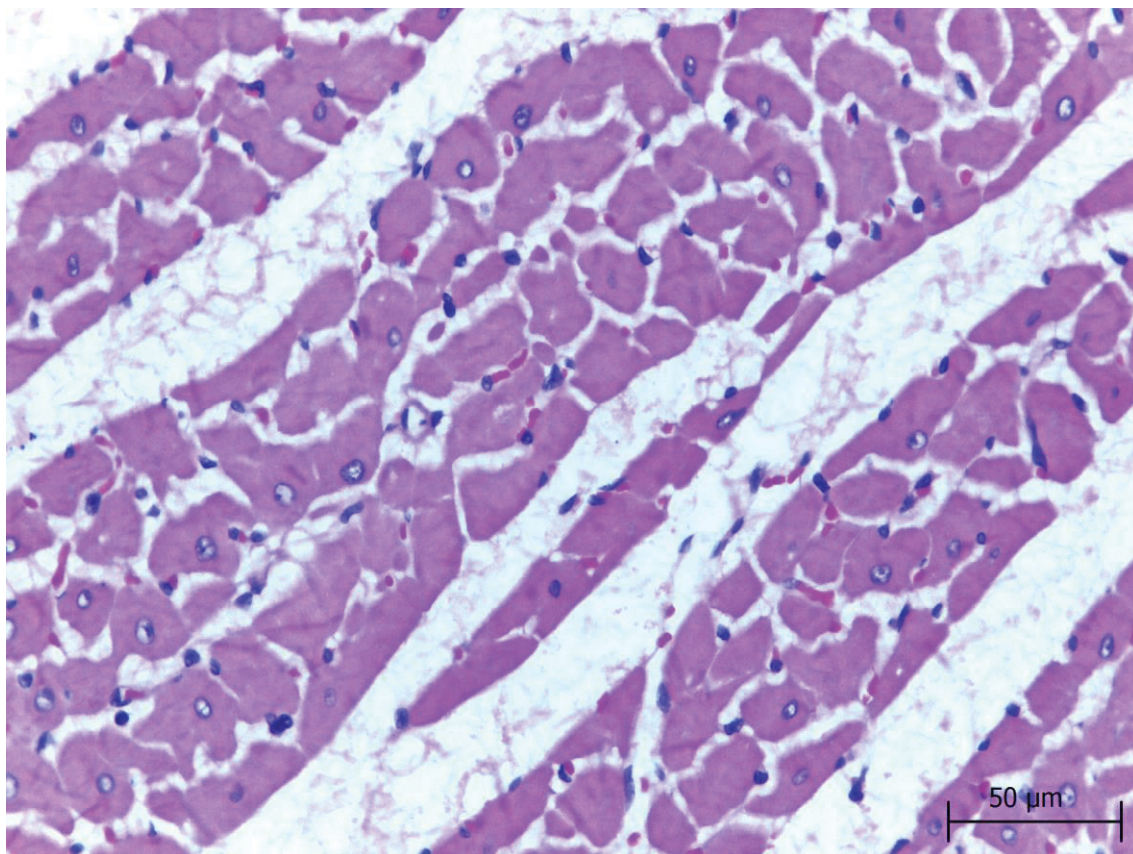


Fig. 19: Corte histológico de coração com edema moderado. Edema caracterizado por presença de substância hialina entre as fibras musculares.

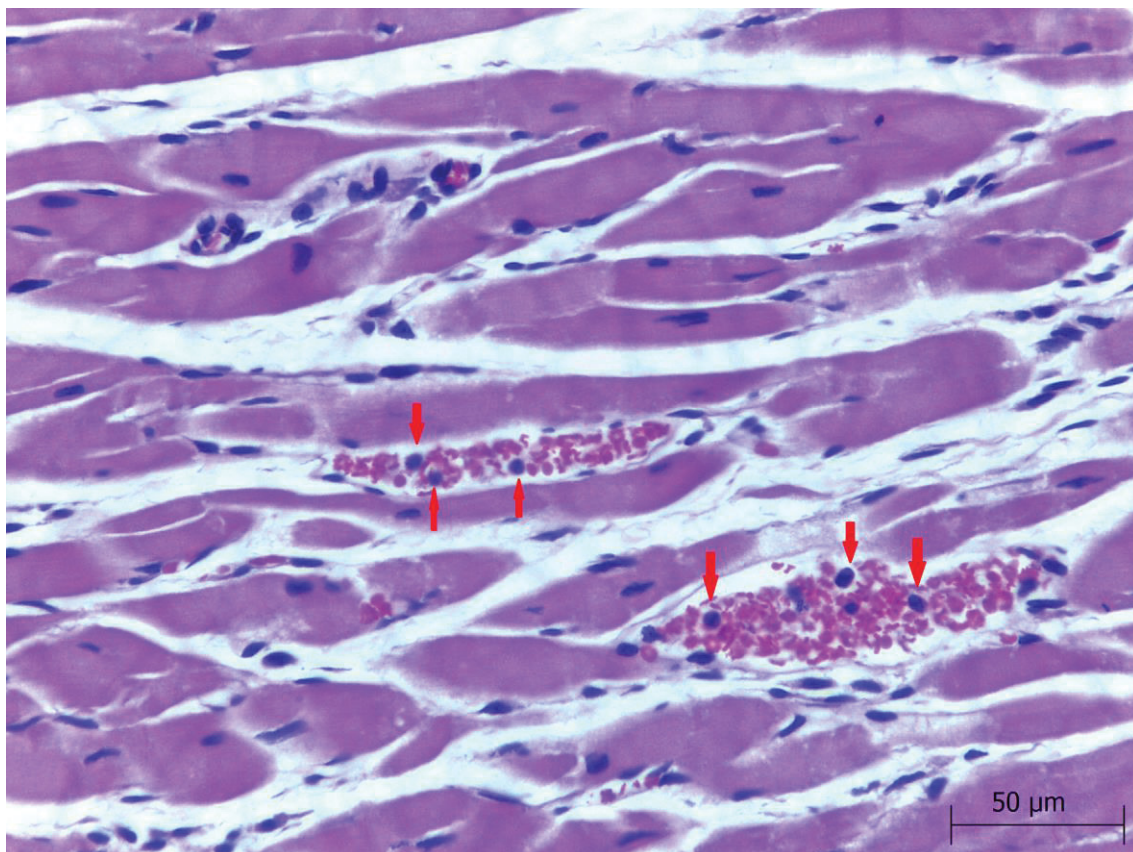
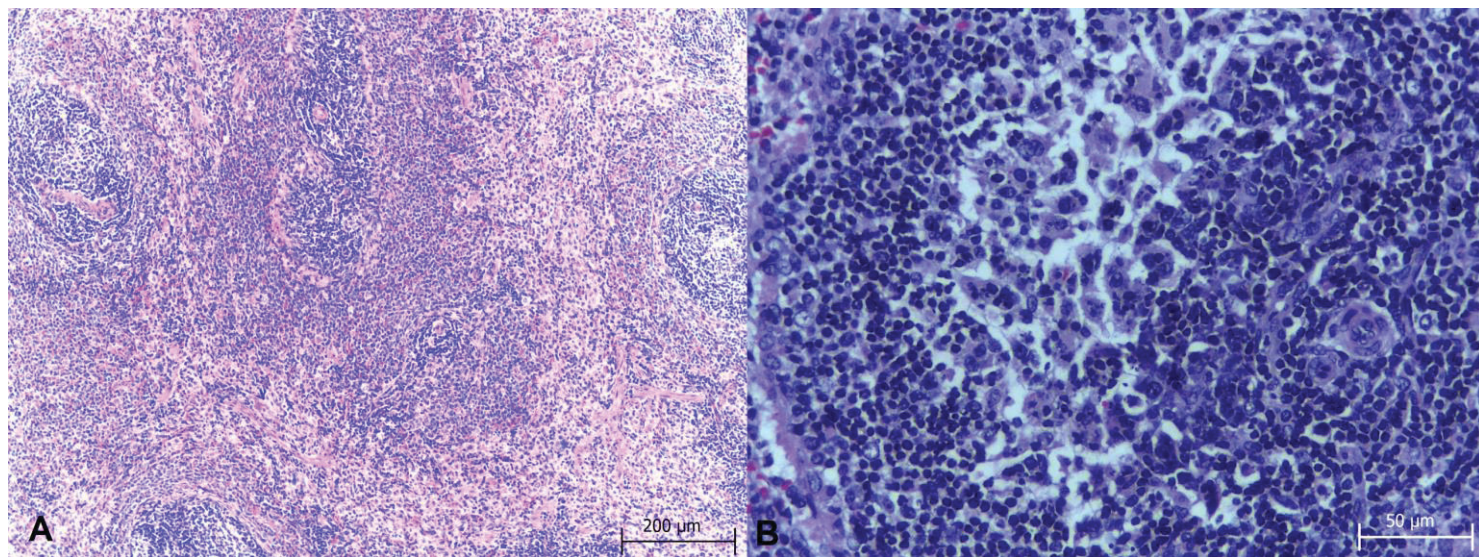


Fig. 20: Corte histológico de coração com infiltrado inflamatório leve. Infiltrado caracterizado pela presença de linfócitos (setas vermelhas) em capilares cardíacos.

6. Avaliação de baço

Fig. 21: Corte histológico de baço íntegro em diferentes aumentos (imagens A e B).



7. Avaliação de cérebro

Fig. 22: Corte histológico de cérebro íntegro