

Márcia Aparecida Portela Kahvegian

**Avaliação da resposta inflamatória durante a
hemodiluição normovolêmica aguda**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Anestesiologia

Orientador: Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

São Paulo

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kahvegian, Márcia Aparecida Portela

Avaliação da resposta inflamatória durante a hemodiluição normovolêmica aguda / Márcia Aparecida Portela Kahvegian. -- São Paulo, 2009.

Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Departamento de Cirurgia.

Área de concentração: Anestesiologia.

Orientadora: Denise Tabacchi Fantoni.

Descritores: 1.Hemodiluição 2.Suínos 3.Amido

4.Cloreto de sódio 5.Gelatina 6.Inflamação 7.Citocinas

USP/FM/SBD-272/09

Normatização Adotada

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

Este trabalho teve auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos n.º. 2005/58987-9 e 2006/53646-1

Dedicatórias

Ao meu marido Renato, companheiro de todas as horas, pelo amor, tolerância e paciência.

Ao meu irmão Marcos e minha avó Almasia pelo amor, incentivo e apoio.

Aos meus pais, Antônio Carlos e Regina pela formação e educação proporcionada.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni pela inestimável orientação na realização deste trabalho, pelos ensinamentos e pela paciência.

Ao Prof. Dr. José Otávio Costa Auler Jr. pelo apoio e confiança.

À amiga Denise Aya Otsuki pela colaboração incomensurável, incentivo e amizade.

À amiga Cristina Massoco pelos ensinamentos, idéias brilhantes, estímulo e colaboração no estudo.

À Carla Holms pela imensa colaboração durante a fase experimental, fato que possibilitou a realização deste estudo.

Ao Sr. Gilberto Nascimento pelo auxílio no Laboratório LIM 08 durante a fase experimental.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP - pelo apoio financeiro concedido e que possibilitou a realização deste estudo.

Ao Prof. Luis Carlos de Sá Rocha por disponibilizar as instalações e equipamentos do Laboratório de Toxicologia e Farmacologia do VPT – FMVZ/USP.

Aos colegas de pós-graduação Teresinha, Alex, Carol, Jéssica, Flor, Josué, Luis André, Rosa, Leila, Silvia, Simone, Ludimila pelos grandes momentos vivenciados.

Às colegas Mônica e Elaine pela generosidade e paciência inesgotável durante a fase laboratorial.

Às grandes amigas Elaine Zardi e Adriana Melo pela compreensão e apoio nos momentos mais difíceis.

À amiga Karina Yazbek pelo apoio e incentivo, principalmente na fase final deste estudo.

Aos colegas da pós-graduação da anestesia, cirurgia e do VPT pela amizade e cumplicidade durante a “trajetória”.

Aos amigos André Leguthe e Edilberto Rodrigues e a todos os colegas do Provet pelo apoio e compreensão.

À Andressa Chiarella e ao Marcio Tomiyoshi pela colaboração durante as dosagens das citocinas.

À Priscila, Magali e Ricardo do Laboratório de Toxicologia e Farmacologia do VPT – FMVZ/USP.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação e para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

SUMARY

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Hemodiluição Normovolêmica Aguda	8
2.2 Reposição Volêmica	11
2.3 Resposta Inflamatória - Mecanismos da Resposta Imune	19
2.4 Mediadores Inflamatórios	24
2.5 Cascata Inflamatória	36
3. OBJETIVOS	39
4. MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 Local de realização do experimento	40
4.2 Animais	40
4.3 Procedimentos	41
4.4 Delineamento Experimental	45
4.5. Avaliação Paramétrica	46
4.5.1 Parâmetros hemodinâmicos	46
4.5.2 Parâmetros de oxigenação	47
4.5.3 Hematócrito, Eletrólitos, Lactato e outros Parâmetros	48
4.5.4 Parâmetros da Inflamação	49
4.6 Descarte dos Animais	58
4.7 Análise Estatística	58
4.8 Estudo Piloto	59
5. RESULTADOS	60
5.1 Parâmetros Hemodinâmicos	60
5.2 Parâmetros de Ventilação, Gases Sanguíneos e Eletrólitos	74
5.3 Parâmetros da Inflamação	94
6. DISCUSSÃO	119
7. CONCLUSÃO	147

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação representativa do <i>burst</i> oxidativo	22
Figura 2 - Ativação das citocinas pró-inflamatórias	27
Figura 3 - Função relacionada a atividade conjunta do TNF, IL-1 e IL-6	33
Figura 4 - Interação dos mecanismos na cascata inflamatória	38
Figura 5 - Placa de 96 poços para ELISA com os respectivos poços de Padrão, Branco e Amostra	53
Figura 6 - Esquema de diluições seriadas da citocina padrão recombinante	54
Figura 7 - Placa de ELISA após a adição de Peróxido de Hidrogênio e Tetrametilbenzidina.	55
Figura 8 - Placa de ELISA após a adição de Ácido Sulfúrico	55
Figura 9 - Variação da Frequência Cardíaca	62
Figura 10 - Variação da Pressão Arterial Sistólica	63
Figura 11 - Variação da Pressão Arterial Diastólica	64
Figura 12 - Variação da Pressão Arterial Média	65
Figura 13 - Variação da Pressão Venosa Central	66
Figura 14 - Variação da Pressão de Artéria Pulmonar	67
Figura 15 - Variação da Pressão de Oclusão da Artéria Pulmonar	68
Figura 16 - Variação do Débito Cardíaco	70
Figura 17 - Variação do Índice Cardíaco	71
Figura 18 - Variação do Índice de Resistência Vascular Sistêmica	72
Figura 19 - Variação do Índice de Resistência Vascular Pulmonar	73
Figura 20 - Variação do pH do sangue arterial	76
Figura 21 - Variação Pressão Parcial de Gás Carbônico no sangue arterial	77
Figura 22 - Variação Pressão Parcial de Oxigênio no sangue arterial	78
Figura 23 - Variação da Saturação de Oxigênio no sangue arterial	79
Figura 24 - Variação do pH do sangue venoso misto	80

Figura 25 - Variação da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono no sangue venoso misto	81
Figura 26 - Variação da Pressão Parcial de Oxigênio no sangue venoso misto	82
Figura 27 - Variação da Saturação de Oxigênio no sangue venoso misto	83
Figura 28 - Variação do Hematócrito	85
Figura 29 - Variação do Bicarbonato no sangue arterial	86
Figura 30 - Variação do Íon Sódio	87
Figura 31 - Variação do Íon Potássio	88
Figura 32 - Variação do Lactato Arterial	89
Figura 33 - Variação dos níveis de Uréia Plasmática	90
Figura 34 - Variação dos níveis de Glicose Plasmática	91
Figura 35 - Variação da osmolaridade	92
Figura 36 - Variação da Temperatura	93
Figura 37 - Citograma e histograma demonstrando as populações de neutrófilos, monócitos na indução do burst com o DCFH, além de linfócitos do sangue periférico no momento basal do grupo HNA + Gelatina	95
Figura 38 - Citograma e histograma demonstrando as populações de neutrófilos, monócitos na indução do burst com o DCFH, além de linfócitos do sangue periférico no momento imediatamente após a hemodiluição do grupo HNA + Gelatina	95
Figura 39 - Variação do Burst Oxidativo de Neutrófilos do Sangue Periférico Representado pelo reagente DCFH	96
Figura 40 - Porcentagem de mudança do burst oxidativo de neutrófilos em relação ao valor basal	97
Figura 41 - Variação do Burst Oxidativo de Neutrófilos do Sangue Periférico Induzido pelo Estímulo PMA	98
Figura 42 - Variação do Burst Oxidativo de Monócitos do Sangue Periférico Representado pelo reagente DCFH	99
Figura 43 - Citograma e histograma demonstrando as populações de macrófagos, células	100

monocíticas na representação do burst oxidativo com o DCFH, além de linfócitos do BALF do grupo HNA + Gelatina	
Figura 44 - Citograma e histograma demonstrando as populações de macrófagos, células monocíticas na indução do burst com o PMA, além de linfócitos do BALF do grupo HNA + Gelatina	100
Figura 45 - Variação do Burst Oxidativo de Células Pulmonares do Lavado Broncoalveolar Representado pelo reagente DCFH	102
Figura 46 - Variação do Burst Oxidativo de Células Pulmonares do Lavado Broncoalveolar Induzido pelo reagente PMA	103
Figura 47 - Variação do Fator de Necrose Tumoral- α	105
Figura 48 - Variação da Interleucina-1 β	106
Figura 49 - Variação da Interleucina-6	107
Figura 50 - Variação da Interleucina-10	108
Figura 51 - Variação da Interleucina-8	109
Figura 52 - Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo Controle corado por hematoxilina e eosina	111
Figura 53 - Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo HNA + Amido corado por hematoxilina e eosina	112
Figura 54 - Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo HNA + NaCl corado por hematoxilina e eosina	112
Figura 55 - Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo HNA + Gelatina corado por hematoxilina e eosina	113
Figura 56 - Detalhamento do padrão microscópico do lobo apical esquerdo de suínos do grupo HNA + Gelatina corado por hematoxilina e eosina	113
Figura 57 - Padrão microscópico do lobo apical esquerdo dos animais do grupo Controle e aqueles submetidos à HNA corado por hematoxilina e eosina	114
Figura 58 - Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de	116

suínos do grupo controle

Figura 59 - Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais 116

pulmonares de suínos do grupo controle

Figura 60 - Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de 116

suínos do grupo HNA + Amido

Figura 61 - Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais 116

pulmonares de suínos do grupo HNA + Amido

Figura 62 - Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de 117

suínos do grupo HNA + NaCl

Figura 63 - Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais 117

pulmonares de suínos do grupo HNA + NaCl

Figura 64 - Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de 118

suínos do grupo HNA + Gel

Figura 65 - Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais 118

pulmonares de suínos do grupo HNA + Gelatina

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso, volume de sangue retirado, volume de solução infundida, volume total de fluidoterapia de manutenção e débito urinário dos animais do grupo Controle e grupos hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	60
Tabela 2 - Parâmetros hemodinâmicos dos animais do grupo Controle e grupos submetidos à HNA com diferentes soluções de reposição volêmica	61
Tabela 3 - Valores de Débito Cardíaco (DC), Índice Cardíaco (IC), Índice de Resistência Vascular Sistêmica (IRVS) e Índice de Resistência Vascular Pulmonar dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	69
Tabela 4 - Valores de gases do sangue arterial dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	74
Tabela 5 - Valores de gases do sangue venoso misto e parâmetros de ventilação dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	75
Tabela 6 - Valores de hematócrito, eletrólitos e lactato dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	84
Tabela 7 - Valores de burst oxidativo de neutrófilos e monócitos do sangue periférico induzidos pelo DCFH e estimulados pelo PMA dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	94
Tabela 8 - Valores de burst oxidativo de células pulmonares (células monocíticas e macrófagos) presentes no lavado broncoalveolar representados pelo DCFH, além de induzidos pelo PMA dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	101
Tabela 9 - Valores séricos de Fator de Necrose Tumoral- α , Interleucina-1 β , Interleucina-6 e Interleucina-10 dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica	104
Tabela 10 - Classificação quanto à infiltração de células mononucleares e polimorfonucleares nos diferentes lobos pulmonares	110
Tabela 11 - Classificação do edema intersticial pulmonar, colapso alveolar e congestão nos diferentes lobos pulmonares	111
Tabela 12 - Classificação da expressão da enzima COX-2 e da molécula de adesão E-selectina nos diferentes lobos pulmonares	115

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HNA	Hemodiluição Normovolêmica Aguda
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
NaCl 0,9%	Solução de Cloreto de Sódio 0,9%
TRALI	Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão
TRIM	Imunomodulação relacionada à transfusão
IL-1	Interleucina - 1
IL-6	Interleucina - 6
IL-8	Interleucina - 8
IL-10	Interleucina - 10
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral - α
IL-12	Interleucina - 12
IL-18	Interleucina - 18
SIRS	Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular tipo 1
HES	Amido hidroxietílico
GEL	Gelatina fluida modificada
LPS	Lipopolissacarídeo
NADPH oxidase	Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
¹ O ₂	Oxigênio singlet
OH ⁻	Radical hidroxila

DNA	Ácido desoxirribonucleico
NF-kB	Fator Transcricional Nuclear-kappa Beta
DCFH-DA	2'7'diacetato de diclorofluoresceína
PMA	Miristato-acetato de forbol
PKC	Proteína Kinase C
iNOS	óxido nítrico sintetase
COX-2	Ciclooxigenase-2
IFN- γ	Interferon- γ
Células NK	Células "Natural Killer"
IL-1Ra	Receptor antagonista de IL-1
IL-2R	Receptor da IL-2
IgM	Imunoglobulina M
IgA	Imunoglobulina A
ELAM-1	Molécula de adesão endotelial tipo 1
VCAM 1	Molécula de adesão vascular tipo 1
PECAM-1	Molécula de adesão plaquetária-1
TGF- β	Fator transformador de crescimento- β
fMLP	N-formilmetionil-leucil-fenilalanina
fMLP	N-formilmetionil-leucil-fenilalanina
ASA	American Society of Anesthesiology
BALF	Lavado Broncoalveolar
SARA	Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto
PMNs	Polimorfonucleares
MIPs	Macrófagos intravasculares pulmonares
RT-PCR	Reverse transcription-polymerase chain reaction

RESUMO

Kahvegian, MAP. **Avaliação da Resposta inflamatória durante a hemodiluição normovolêmica aguda.** São Paulo, 2009. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Introdução: A Hemodiluição normovolêmica Aguda (HNA) envolve a retirada do sangue total e concomitante infusão de fluidos de reposição volêmica para manutenção da normovolemia. É uma estratégia que restringe a transfusão de sangue e evita a transmissão de doenças, imunossupressão e outras complicações associadas à transfusão sanguínea.

Objetivos: O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos de diversos fluidos na resposta inflamatória durante o procedimento de HNA.

Métodos: Foram utilizados 28 suínos (n=28; 7/grupo) randomizados nos seguintes grupos: Controle, grupo anestesiado sem HNA; HNA + Amido, os animais foram submetidos a HNA sendo a reposição volêmica realizada com amido hidroxietílico 6% (130/0,4) na taxa de 1 ml de fluido para 1 ml de sangue retirado; HNA + NaCl, animais submetidos a HNA com reposição volêmica realizada com solução de cloreto de sódio 0,9% na proporção de 3:1; HNA + GEL, procedimento de HNA realizado com infusão da gelatina fluida modificada na taxa de 1:1. Os animais foram hemodiluídos durante 30 minutos para o hematócrito de 15%. Foram mensurados os parâmetros hemodinâmicos e foram coletados sangue para realização da hemogasometria e determinação dos níveis plasmáticos de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-10, além do burst oxidativo de neutrófilos e monócitos circulantes. O lavado broncoalveolar foi coletado para mensuração dos níveis da IL-8 e do burst oxidativo de células pulmonares. O tecido pulmonar foi coletado para análise histológica e para imunistoquímica para detecção da expressão de COX-2 e E-selectina. A análise estatística foi realizada por meio de provas paramétricas como a análise de variância com medidas repetidas (ANOVA), seguido do teste de Tukey-Kramer e de provas não paramétricas, o teste de Kruskal-Wallis. O grau de significância estabelecido foi de 5% (p < 0,05).

Resultados: Os principais resultados deste estudo demonstraram que os animais hemodiluídos tanto com gelatina, como solução de cloreto de sódio 0,9% apresentaram resposta inflamatória mais pronunciada quando comparado aos outros grupos, traduzida no aumento de citocinas (TNF- α , IL-6 e IL-10), na expressão de COX-2 e E-selectina

no tecido pulmonar, além da observação de edema pulmonar, congestão e colapso alveolar. Apesar destes fatos, a resposta inflamatória estudada no sangue foi considerada de baixa magnitude.

Conclusão: Durante a HNA, tanto a gelatina quanto a solução de cloreto de sódio 0,9% promove resposta inflamatória mais intensa quando comparada ao amido hidroxietílico 6%.

Descritores: Hemodiluição, suínos, amido hidroxietílico, cloreto de sódio, gelatina, inflamação, citocinas.

SUMMARY

Kahvejian, MAP. **Inflammatory response during acute normovolemic hemodilution.** São Paulo, 2009. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Background: Acute normovolemic hemodilution (ANH) involves intentional withdrawal of the whole blood with concurrent infusion of fluids to maintain normovolemia. ANH avoids blood transfusion and deleterious effects related with transfusion.

Objective: The aim of this study was to determine the effects of diverse fluids on the inflammatory response during ANH.

Methods: Twenty-eight pigs (n=28; 7/group) were randomized as follows: (Control) control group without ANH; (ANH + HES) ANH with 6% hydroxyethyl starch at a ratio of 1:1; (ANH + NS) ANH with normal saline at a ratio of 3:1; (ANH + GEL) ANH with gelatin 1:1. Animals were hemodiluted to a hematocrit of 15% in 30 min. Hemodynamic parameters were recorded, and blood samples were collected to determine plasma levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, as well as gas analysis. IL-8 was measured in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Neutrophil and macrophage oxidative burst activity were determined in the peripheral blood and BALF. Histopathological and immunohistochemistry to COX-2 and E-selectin expression were performed with the lung tissue. Data were submitted to analysis of Variance for repeated measures followed by the Tukey-Kramer test. To immunohistochemistry and histopathological scores the Kruskal-Wallis test was used to assess the significance. The $p < 0.05$ was considered significant.

Results: The principal findings of this investigation showed that animals hemodiluted with GEL and NS had a more pronounced inflammatory response when compared to those hemodiluted with HES. The animals in the GEL and NS groups showed an increase in cytokines (TNF- α , IL-6, IL-10), a strong expression of COX-2 and E-selectin in the lung tissue and pulmonary edema, congestion and alveoli collapse. However, the magnitude of this response was quite small showing that ANH does not substantially activate the inflammatory system.

Conclusion: During ANH, GEL and NS but not HES could elicit an inflammatory response besides the effective plasma volume therapy.

Keywords – Hemodilution, swine model, hydroxyethyl starch, normal saline, gelatin, inflammation, cytokines.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os procedimentos cirúrgicos de grande porte estão normalmente relacionados com importante perda sangüínea, resultando em alterações fisiológicas e imunológicas de graus variados. A transfusão de sangue durante estes procedimentos pode acarretar riscos, como as reações transfusionais, transmissão de infecção ou outras doenças e mesmo imunossupressão (Brooks, 1992).

A hemorragia durante o procedimento cirúrgico, assim como a transfusão sangüínea homóloga são fatores que podem acentuar a resposta imunológica em níveis diferentes de gravidade aumentando a morbidade e mortalidade principalmente no período pós-operatório. A determinação e descrição da imunossupressão creditada à transfusão de sangue homólogo têm levantado questões a respeito dos benefícios da transfusão sangüínea autóloga, uma vez que a homóloga parece gerar mediadores inflamatórios em maiores quantidades.

Estratégias que restringem a transfusão de sangue estão sendo cada vez mais aplicadas no paciente grave, no qual a possibilidade de transmissão de doenças, imunossupressão e outras complicações associadas àquele procedimento podem ter efeitos desastrosos (Hérbert *et al.*, 1999). Dentre estas, destaca-se a hemodiluição normovolêmica aguda, método que envolve menos gastos e excetuando-se a execução da técnica propriamente dita, é um procedimento simples. Nesta técnica, uma quantidade pré-determinada de sangue é retirada do paciente anestesiado e simultaneamente, é realizada a reposição volêmica com soluções cristalóides ou colóides. O sangue é armazenado em bolsas convencionais de transfusão e em temperatura ambiente por período de até seis horas. Após a retirada do sangue, a cirurgia é iniciada e ao término do procedimento cirúrgico, o sangue removido é devolvido ao paciente.

Várias soluções podem ser utilizadas para reposição volêmica na hemodiluição como o Ringer lactato, solução de cloreto de sódio 0,9% e diferentes colóides. Alguns autores sugeriram e comprovaram a participação dessas soluções na cascata inflamatória em diversas situações clínicas e experimentais, sendo que, o estado de ativação na qual se encontram as células, também influenciará a resposta inflamatória frente à fluidoterapia.

Com relação ao procedimento de hemodiluição, há poucos estudos na literatura que relacionam o tipo de solução utilizada durante a técnica e a resposta inflamatória gerada tanto pelo procedimento quanto pela fluidoterapia empregada.

Pretendeu-se demonstrar que em um modelo de hemodiluição normovolêmica aguda, se o emprego de diferentes tipos de soluções para reposição volêmica durante a perda sanguínea poderia induzir uma resposta inflamatória diversificada. Muitos estudos envolvendo resposta inflamatória e ressuscitação volêmica demonstraram resultados conflitantes na literatura, fato motivador para realização do presente projeto de pesquisa.

Neste sentido, no presente estudo avaliou-se os efeitos da hemodiluição realizada com solução de cloreto de sódio 0,9%, amido hidroxietílico 6% (130/0.4) e gelatina fluida modificada por meio da mensuração de mediadores inflamatórios, além da análise histopatológica e imunohistoquímica do tecido pulmonar.

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

Tem sido observado ao longo dos anos, um aumento na quantidade de transfusões sanguíneas, principalmente em decorrência do acréscimo de doenças crônicas na população idosa, aumento de pacientes internados nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), além dos procedimentos cirúrgicos os quais cursam com importante perda de sangue. Entretanto, o número de doadores tem diminuído, enquanto o custo da bolsa de sangue tem aumentado, devido ao requerimento de testes laboratoriais rigorosos para o controle de qualidade (Raghavan, Marik, 2005).

Durante décadas, a transfusão sanguínea foi considerada uma estratégia primordial para a vida, contudo, existem evidências que a mesma possui um efeito de imunomodulação, fato que poderia aumentar a mortalidade, o risco de infecções, recidivas de neoplasias, além da possibilidade de desenvolvimento de doenças auto-imunes (Marik, Sibbald, 1993; Purdy *et al.*, 1997; Vamvakas, Carven, 1999; Zallen *et al.*, 1999; Mynster, Nielsen, 2000; Martin *et al.*, 2001; Hebert, Fergusson, 2002; Taylor *et al.*, 2002; Vincent *et al.*, 2002), questionando assim, a segurança da transfusão sanguínea.

Um estudo observacional multicêntrico (Anemia and Blood Transfusion in Critically Ill Patients study) envolvendo 3534 pacientes oriundos de 146 UTI's demonstrou a associação entre taxa de mortalidade de pacientes gravemente enfermos que receberam transfusão de hemocomponentes (29%) quando comparados àqueles que não foram transfundidos (14,9%). Adicionalmente, o estudo epidemiológico evidenciou a associação entre transfusão e função orgânica diminuída, assim como, transfusão e mortalidade (Vincent *et al.*, 2002). Outro estudo similar (Anemia and Blood Transfusional in the Critically Ill) com 4892 pacientes provenientes de 284 UTI's intensiva mostrou que a transfusão sanguínea foi associada com longos períodos de

estadia na UTI, estadia hospitalar longa e aumento da mortalidade, afirmando que a transfusão de concentrado de hemácias está associada ao aumento do risco de morte (Corwin *et al.*, 2004).

Observa-se atualmente uma mudança no foco do risco relacionado à prática da transfusão. A importância da infecção associada à transfusão sanguínea tem diminuído nas últimas duas décadas, sendo que as complicações não-infecciosas emergiram como os mais comuns riscos da transfusão. Neste sentido, Hendrickson e Hillyer (2009) citaram que os riscos sérios não-infecciosos da transfusão podem ser imunomediados como, por exemplo, a reação transfusional hemolítica, reação transfusional não-hemolítica febril, reação transfusional anafilática, lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão (TRALI), púrpura pós-transfusional, microquimerismo, imunomodulação relacionada à transfusão (TRIM) e aloimunização.

Além dos fatores citados, deve-se levar em consideração as alterações morfológicas e funcionais ocorridas com as hemácias durante o processo de estocagem da bolsa de sangue. As células vermelhas sanguíneas estocadas por um período superior a quinze dias podem apresentar habilidade diminuída para deformar e carrear oxigênio para a microcirculação (Marik, Sibbald, 1993). A completa depleção da concentração de 2,3-difosfoglicerato ocorre depois de 2 semanas de estocagem, reduzindo em até 50% a capacidade das hemácias carrear oxigênio (Apstein *et al.*, 1985; Marik, Sibbald, 1993). Os níveis de trifosfato adenosina das células vermelhas diminuem durante o período de estoque da bolsa de sangue, resultando na mudança do formato destas células, perda da membrana lipídica e diminuição da deformidade celular (Stuart, Nash, 1990; Fischer *et al.*, 2003), obstruindo o capilar e predispondo o paciente ao edema tecidual e diminuição do transporte de oxigênio (Simchon *et al.*, 1987).

Outro processo observado durante a armazenagem da bolsa de sangue é o aumento da adesão de células vermelhas. A transfusão destas hemácias pode comprometer o fluxo sanguíneo tecidual, diminuição da perfusão tecidual, predispondo à disfunção de múltiplos órgãos, principalmente em pacientes críticos (Ho *et al.*, 2001).

As substâncias biológicas liberadas pelos componentes do sangue durante o processo de estocagem da bolsa sanguínea podem apresentar um papel fundamental no estabelecimento dos efeitos adversos da transfusão (Jensen *et al.*, 1996; Weisbach *et al.*, 1999; Kotake *et al.*, 2009). Por exemplo, previamente creditava-se como causa da reação transfusional não-hemolítica febril uma reação do sistema imune contra os leucócitos do doador. Alguns estudos implicaram a geração de citocinas inflamatórias durante a estocagem da bolsa como a causa da reação transfusional (Muylle *et al.*, 1993; Heddle *et al.*, 1994).

A bolsa de sangue quando estocada pode conter citocinas pró-inflamatórias potentes, como IL-1, IL-6, IL-8 e Fator de Necrose Tumoral (Stack *et al.*, 1995; Kristiansson *et al.*, 1996; Shanwell *et al.*, 1997; Fransen *et al.*, 1999; Zallen *et al.*, 1999; Tolksdorf *et al.*, 2001), sendo estes um dos estímulos para a ativação de neutrófilos, liberação adicional de IL-8 e secreção de fosfolipase A2, predispondo o paciente à Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) (Mynster *et al.*, 1998; Zallen *et al.*, 2000). A arginina é degradada por uma enzima denominada arginase, a qual é liberada pelas células vermelhas durante a armazenagem da bolsa de sangue e está relacionada com a imunossupressão associada à transfusão. Enquanto a arginina estimula a função dos linfócitos, a arginase exerce exatamente o efeito contrário (Prins *et al.*, 2001). Por outro lado, a liberação de lipídeos e proteínas durante o período de estocagem da bolsa de sangue pode ativar neutrófilos, resultando em lesão aguda pulmonar devido à transfusão (Silliman *et al.*, 1998; Looney *et al.*, 2004).

A transfusão sanguínea é associada com resultados negativos que podem comprometer a sobrevivência do paciente (Crosby, 2002; Vamvakas, 2002; Malone *et al.*, 2003; Hill *et al.*, 2003; Vamvakas, 2003; Vamvakas, 2007). Faz parte deste contexto a presença de fatores ou mediadores inflamatórios que durante a transfusão sanguínea poderiam ativar a cascata inflamatória (Hensler *et al.*, 2003; Wolowczyk *et al.*, 2005; Escobar *et al.*, 2007;). Um dos pontos primordiais nesta polêmica é a imunossupressão associada a transfusão (Landers *et al.*, 1996). Parece que o efeito imunomodulador está embasado na diminuição da função das células T e células apresentadoras de antígenos como os linfócitos B, macrófagos e células dendríticas (Rothstein, Sayegh, 2003; Freeman *et al.*, 1993;).

Avall *et al.* (1997) concluíram que a depressão do sistema imune pode ser resultante da transfusão de sangue homólogo, pois demonstraram níveis de IL-6 significativamente mais altos no primeiro, quarto e quinto dia de pós-operatório, em pacientes transfundidos com sangue autólogo (120 pg/ml) em comparação aos pacientes que receberam sangue homólogo (60 pg/ml). No que se refere a IL-8, esta foi significativamente mais alta no grupo que recebeu sangue autólogo (25 pg/ml) em comparação ao grupo transfundido com sangue homólogo (10 pg/ml), no primeiro dia de pós-operatório. Estudo conduzido por Heiss *et al.* (1997) demonstrou aumento nos níveis plasmáticos de IL-10 em pacientes submetidos à cirurgia de retirada de tumor colón-retal e que receberam transfusão de sangue homólogo.

Por outro lado, a resposta inflamatória de animais que perderam 30% do volume sanguíneo total e receberam transfusão com sangue fresco homólogo não foi significativamente diferente dos ratos que receberam transfusão com sangue autólogo (Abraham, Chang, 1984).

Além dos pontos citados, a literatura demonstrou alta frequência de recidivas tumorais em paciente com câncer de mama (Tartter *et al.*, 1985), pulmão (Hyman *et al.*, 1985) e cólon (Burrows, Tartter, 1982) que receberam transfusão sangüínea.

A influência do estresse pré-cirúrgico, da anestesia, da instrumentação do paciente, do tipo de reposição volêmica e a cirurgia propriamente dita, deve ser levado em consideração, visto que esses co-fatores podem ser o gatilho para o desencadeamento da cascata inflamatória. Além destes fatores, a perda de sangue durante o procedimento cirúrgico pode induzir ou suprimir a inflamação. Parece existir correlação positiva entre perda sangüínea e resposta inflamatória. Sillett *et al.* (1998) cita que a imunossupressão após a hemorragia parece ser mais dependente da gravidade do choque hemorrágico do que o fluido utilizado para ressuscitação volêmica.

Até o presente momento, muitos estudos foram conduzidos acerca de choque hemorrágico e inflamação (Rhee *et al.*, 1998; Watters *et al.*, 2004; Alam *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2005; Bahrami *et al.*, 2006), sepse e inflamação (Zhang *et al.*, 2003; Martins *et al.*, 2003; Lv *et al.*, 2006; Di Filippo *et al.*, 2006; Feng *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2008) sendo que poucas pesquisas constam na literatura sobre hemodiluição e resposta inflamatória (Peillon *et al.*, 1995; Wolowczyk *et al.*, 2005).

Kotake *et al.* (2009) observaram em um estudo clínico que não houve diferenças entre as técnicas de hemodiluição normovolêmica aguda e pré-doação de sangue autólogo com relação aos mediadores inflamatórios após a transfusão de sangue previamente coletado com uma das técnicas. A principal diferença encontrada neste estudo foi em relação ao período de estocagem da bolsa, sendo de 3,7 horas e 6,1 dias para HNA e pré-doação, respectivamente, fato que resultou em maior liberação de elastase neutrofílica e IL-10 na bolsa de sangue advinda da técnica de pré-doação.

Estudo conduzido por Peillon *et al.* (1995) demonstrou que a hemodiluição normovolêmica aguda com queda de 10% de hematócrito e reposição volêmica com albumina 4%, não aumentou o processo inflamatório em cirurgias de face, mas, também não reduziu a proteína C-reativa, hepatoglobulina, ácido glicoproteico e fibrinogênio. Wolowczyk *et al.*, 2005 observou que a HNA não promoveu o aumento da IL-6 em pacientes submetidos ao reparo de aneurisma aórtico abdominal.

2.1 Hemodiluição Normovolêmica Aguda

A hemodiluição consiste na retirada de sangue total do paciente no período pré-operatório imediato com simultânea infusão de soluções cristalóides ou colóides para a manutenção do volume circulante. Esta técnica foi introduzida na Medicina, no início da década de 60 com o objetivo de se evitar ou ao menos diminuir a necessidade de transfusão de sangue homólogo nos pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos de grande porte, especialmente os cardiológicos, ortopédicos e os oncológicos (Monk *et al.*, 1997).

Os argumentos que favorecem a transfusão autógena são as reações hemolíticas severas e as alterações bioquímicas que ocorrem com o sangue homólogo que é estocado, perda dos fatores de coagulação, de plaquetas, de difosfoglicerato, além da imunossupressão com conseqüente recidiva ou metástases tumorais e exposição às doenças (Kreimeier, Messmer, 1996). O baixo custo da técnica (Ness *et al.*, 1992; Monk *et al.*, 1997) e a menor perda de eritrócitos durante a cirurgia, uma vez que o sangue perdido está diluído (Ness *et al.*, 1992), são vantagens consideráveis obtidas com a hemodiluição. Além disso, a auto-transfusão realizada ao término da cirurgia contém plaquetas, fatores da coagulação e hemoglobina (Niinikoski *et al.*, 1981), pois não é

necessária a refrigeração do sangue coletado durante as primeiras seis horas (Gallagher, 1995).

A administração de fluido simultaneamente à retirada de sangue ocasiona diminuição do hematócrito e hemoglobina. O aumento do débito cardíaco em decorrência da diminuição da viscosidade do sangue é uma das principais adaptações fisiológicas que ocorrem (Gallagher, 1995; Kreimeier, Messmer, 1996).

Durante a hemodiluição não existe qualquer consenso a respeito do emprego de cristalóides ou colóides para reposição volêmica (Baron *et al.* 1991; Linden *et al.*, 1998; Nielsen *et al.*, 1999), mas está comprovado que as soluções colóides têm maior capacidade de expansão volêmica do que as cristalóides (Gallagher, 1995; Rossi *et al.*, 1996). Os colóides são efetivos com o emprego de pequenos volumes de infusão, possuem longa duração de ação e apresentam menor risco de edema pulmonar por excessivo aporte de água livre (Strauss, 1988, Falk *et al.*, 1989). Por exemplo, a meia vida do amido hidroxietílico (200.000 Daltons) é de 3 a 4 horas sendo que a perda de 1 ml de sangue é adequadamente substituída com 1 ml desta substância (Strauss, 1988), enquanto que no caso de cristalóides são necessários 3 ml para reposição de 1 ml de sangue (Shoemaker, 1995). Para manutenção da volemia durante a hemodiluição normalmente são obedecidos estes mesmos critérios (Stehling, Zauder, 1991; Ness *et al.*, 1992; Biboulet *et al.*, 1996). No entanto, os pacientes nos quais à hemodiluição é realizada apenas com Ringer lactato estão mais sujeitos ao acúmulo de líquido nos pulmões (Greenfield *et al.*, 1972; Margarido *et al.*, 2007) do que aqueles submetidos à hemodiluição com amido hidroxietílico (Boldt *et al.*, 1988). Outra forma de se realizar a reposição volêmica na hemodiluição é associar dois tipos de fluido. Fantoni *et al.* (1998) demonstraram que a administração de amido hidroxietílico a 6% e Ringer

lactato, resulta em melhor desempenho hemodinâmico do que a reposição isolada com cristalóides.

Os amidos têm demonstrado melhores resultados dentre os diferentes colóides utilizados na hemodiluição (Saunders *et al.*, 1983; Ness *et al.*, 1992; Mortelmans *et al.*, 1995). As gelatinas e as dextranas promovem maior número de reações alérgicas que os amidos (Ring, Messmer, 1997; Mortelmans *et al.*, 1995). O amido hidroxietílico apresenta vantagens também em relação à albumina, no que tange ao custo mais acessível e a menor interferência com a agregação plaquetária (Saunders *et al.*, 1983; Gallagher, 1995), mas ambos são capazes de manter a normovolemia durante a realização da hemodiluição (Baron *et al.*, 1991).

Uma das várias maneiras de se calcular a quantidade de sangue que pode ser retirada para a hemodiluição é a fórmula estabelecida por Gross (1983), descrita a seguir:

$$V = VES \times (H_i - H_d) / H_m, \text{ onde:}$$

V = volume de sangue a ser retirado; VES = volume estimado de sangue (80ml/kg para o suíno adulto); H_i = hematócrito inicial do paciente; H_d = hematócrito desejado; H_m = média entre H_d e H_i .

Para que a hemodiluição seja segura, é importante se estabelecer valores de hematócrito que não comprometam o transporte de oxigênio do paciente e, sim, apenas favoreçam as propriedades reológicas do sangue (Kettler, 1994). A literatura aponta diversos valores de hematócrito alvo que podem variar de 15% a 29% (Niinikoski *et al.*, 1981; Mathru *et al.*, 1991; Monk *et al.*, 1997).

2.2 Reposição Volêmica

A controvérsia em relação às soluções cristalóides e colóides utilizadas para a reposição volêmica está presente na literatura. Após exaustivos esforços na busca da melhor solução no que diz respeito à hemodinâmica, a comunidade científica não tem poupado esforços na tentativa de encontrar uma solução de ressuscitação volêmica que determine mínimos efeitos na resposta inflamatória.

O déficit de volume sanguíneo absoluto ou relativo é uma situação corriqueira durante o trauma, cirurgia ou mesmo na unidade de terapia intensiva. O sangramento causa a deficiência de volume absoluto, enquanto a vasodilatação mediada por substâncias vasoativas envolvem uma deficiência de volume relativa. Esta diminuição do volume sanguíneo também pode estar presente quando não há perda de fluido, secundária às alterações na barreira endotelial e ao aumento da permeabilidade vascular, como ocorre na inflamação. A terapia de reposição volêmica é fundamental para o paciente cirúrgico e/ou crítico, já que a hipovolemia é um potente estímulo da mediação inflamatória (Boltdt, 2006) e, a reposição volêmica aumenta o retorno venoso, o débito cardíaco e a perfusão tecidual (Perret, Feihl, 2000). As dúvidas a respeito da escolha da solução de reposição volêmica ideal não incluem apenas o debate entre cristalóide ou colóide, mas também qual cristalóide e qual colóide a ser utilizado. Todos os substitutos do plasma utilizados para corrigir a hipovolemia possuem benefícios e deméritos, como por exemplo, efeitos na função renal e na coagulação. Em adição a correção de volume e manutenção da estabilidade hemodinâmica, a otimização do status do volume intravascular pode apresentar importantes efeitos adicionais (Whinney *et al.*, 2000).

O trauma, infecção, cirurgia ou mesmo o paciente gravemente enfermo internado na UTI pode precipitar a cascata inflamatória, levando a ativação dos mecanismos regulatórios necessários para controlar a intensidade da resposta inflamatória. Frente ao

estímulo, uma variedade de citocinas são produzidas e liberadas com conseqüente dano a integridade do endotélio. A lesão endotelial parece ser o ponto principal de um complexo processo fisiopatológico o qual resulta no desenvolvimento da Síndrome de Disfunção de Múltiplos Órgãos. Neste sentido, os polimorfonucleares parecem apresentar uma função essencial no processo, por meio do “*rolling*”, aderência ao endotélio, extravasamento e migração para os tecidos. A superfície endotelial, estimulada por fatores como citocina e hipóxia, expressa uma série de receptores essenciais na aderência leucocitária. Inúmeras moléculas de adesão tem sido identificadas e são responsáveis por mediar a interação entre as células endoteliais e os leucócitos. Quando aderidos ao endotélio, os leucócitos liberam uma série de agentes tóxicos que podem causar dano endotelial (Boldt, 2006).

Os efeitos imunomoduladores das soluções utilizadas para restaurar a volemia tem sido estudados exaustivamente e, os fatores que definem a influência das solução de reposição volêmica na função imune, resposta inflamatória e ativação e lesão endotelial ainda não estão esclarecidos (Rotstein, 2000).

As soluções colóides e cristalóides são utilizadas para terapia de reposição de volume e as informações são inúmeras sobre os efeitos dessas soluções na inflamação. São soluções usadas para manter ou aumentar a perfusão tecidual em pacientes com sepse, trauma ou submetidos à cirurgia (Johan, 2000; Nicholson *et al.*, 2000). Durante o procedimento de hemodiluição, estas soluções são indispensáveis para manter a perfusão tecidual e o débito cardíaco.

A fluidoterapia utilizada durante inúmeras situações pode apresentar impacto divergente na resposta imune, ativação neutrofílica e dano tecidual (Rhee *et al.*, 1998; Committee on fluid resuscitation for combat casualties, 1999; Rhee *et al.*, 2000; Alam *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2005). A ativação exacerbada do sistema inflamatório após a

ressuscitação volêmica massiva parece promover resultados negativos (Nast-Kolb *et al.*, 1997; Rhee *et al.*, 1998; Alam *et al.*, 2000; Lang *et al.*, 2003; Boldt *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2005; Cotton *et al.*, 2006). Os neutrófilos ativados têm sido considerados os mediadores responsáveis pelos danos aos tecidos e à microcirculação.

As soluções cristalóides são muito difundidas e amplamente usadas como fluido de reposição volêmica. Os cristalóides atravessam a membrana vascular com facilidade e são distribuídos nos compartimentos vascular e intersticial, sendo necessária a infusão de grandes volumes para se manter a normovolemia (Boldt, 2000). A administração de cristalóides é associada com altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias e, conseqüentemente, forte expressão de moléculas de adesão (Cotton *et al.*, 2006). Schmand *et al.* (1995) investigou os efeitos do amido hidroxietílico e do Ringer lactato na imunidade celular após o choque hemorrágico traumático e observou que o grupo colóide apresentou função dos macrófagos peritoneais mais ativa, além de níveis circulantes de IL-6 mais baixos quando comparado ao grupo cristalóide.

Uma explicação potencial para o fato dos cristalóides promoverem um impacto maior na inflamação seria que a necessidade de grandes volumes para expansão plasmática, associada ao aumento da pressão hidrostática e diminuição da pressão oncótica, além das alterações da osmolaridade intracelular e extracelular, fatores que poderiam levar à exaustão dos mecanismos reguladores da mediação inflamatória. Uma vez que a resposta inflamatória exacerbada foi iniciada, a sobrecarga de fluidoterapia e o edema tecidual formariam um círculo vicioso resultando na SIRS (Powers *et al.*, 2005).

Estudos conduzidos com a reposição volêmica com Ringer lactato, dextran 40 e amido hidroxietílico 6% demonstraram aumento da ativação neutrofílica, traduzida na forma de *burst* oxidativo em um modelo de choque hemorrágico em suínos (Alam *et al.*,

2004), enquanto a ressuscitação com sangue fresco total ou solução hipertônica não determinaram ativação de neutrófilos (Rhee *et al.*, 1998; Alam *et al.*, 2004). Koustova *et al.* (2002) demonstraram um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) pelos neutrófilos do sangue de humanos saudáveis quando este foi testado *in vitro* com o Ringer lactato.

Brown *et al.* (1995) notaram, em um modelo de choque hemorrágico em cães e reposição volêmica utilizando cristalóides ou auto-transfusão, que o grupo tratado com cristalóide apresentou diminuição da imunidade humoral, demonstrada na mensuração dos níveis de Imunoglobulina A e IgG.

Em estudo conduzido em ratos, a ressuscitação com Ringer lactato após a hemorragia foi associada com aumento da expressão das moléculas de adesão E e P-selectina, edema pulmonar e influxo de células no pulmão, enquanto que, o grupo tratado com sangue total não apresentou alteração destas moléculas (Alam *et al.*, 2000). Em outro estudo, Alam *et al.* (2001) observaram que a ressuscitação com Ringer lactato, no choque hemorrágico grave, aumenta a morte celular por apoptose e a expressão da ICAM-1 no pulmão 1 hora após a ressuscitação.

A literatura recente indica que tanto solução de cloreto de sódio 0,9%, quanto Ringer lactato interferem quase que da mesma maneira no processo inflamatório. Suínos submetidos à choque hemorrágico não-controlado apresentaram valores similares de expressão gênica de citocinas no pulmão e, de infiltração neutrofílica nos alvéolos quando esses dois tipos de cristalóides foram utilizados para ressuscitação volêmica (Watters *et al.*, 2004).

Muitos estudos demonstraram que os colóides artificiais possuem propriedades pró-inflamatórias (Rhee *et al.*, 2000; Welters *et al.*, 2000; Alam *et al.*, 2004), anti-inflamatórias (Hofbauer *et al.*, 1999; Alam *et al.*, 2000; Engel *et al.*, 2001; Jaeger *et al.*,

2001; Horstick *et al.*, 2002; Powers *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Boldt *et al.*, 2004; Lv *et al.*, 2006) ou mesmo nenhum efeito na resposta inflamatória (Jaeger *et al.*, 2000; Engel *et al.*, 2001) apesar da ação na expansão plasmática. A gelatina fluida modificada aumentou os níveis de IL-6 e TNF- α , além de diminuir a IL-10 em um modelo de choque hemorrágico em ratos, quando comparado ao Ringer lactato. Da mesma maneira, o colóide aumentou o influxo de células mononucleares para o pulmão causando importantes alterações histológicas (Lee *et al.*, 2005).

Os colóides são efetivos em pequenos volumes possuindo longa duração de ação. O amido hidroxietílico é um colóide, polímero da amilopectina modificado sinteticamente, sendo farmacologicamente classificado como expansor plasmático e quimicamente como polissacarídeo (Dieterich *et al.*, 1998). O objetivo das soluções colóides é a manutenção da pressão oncótica e suprimento de eletrólitos (Treib *et al.*, 1999). As características físicas e químicas dos colóides são definidas pelo grau de hidroxilação, principal determinante da meia-vida circulante e, o peso molecular, determinante da atividade do colóide. As soluções de amido são rapidamente hidrolisadas pela amilase plasmática. Com mínima substituição do radical hidroxil pelas unidades de glicose, a estabilidade da solução é excelente, mas a hidrólise é rápida e a meia-vida curta. Consta como um dos principais efeitos adversos das preparações de amido hidroxietílico, principalmente as de alto peso molecular e alto grau de substituição, as alterações na coagulação (Treib *et al.*, 1996^a; Treib *et al.*, 1996^b), traduzidos pelo aumento do tempo de trombloplastina parcial, diminuição do Fator VIII e do fator de von Willebrand (Treib *et al.*, 1999).

O amido hidroxietílico constitui-se de cadeias ramificadas e esféricas de moléculas de glicose com peso molecular médio de 450.000 daltons, em que ocorre substituição de parte das moléculas de glicose por grupo hidroxietílico para maior

retenção da substância no espaço intravascular. Três tipos de amido hidroxietílico estão comercialmente disponíveis: *Hetastarch*® (HES 450/0,7), *Pentastarch*® (HES 200/0,5) e *Voluven*® (HES 130/0,4). Todos se apresentam em soluções salinas isotônicas, podendo ser estocados em temperatura ambiente (Fantoni, Cortopassi, 2002). O *hetastarch* é mais efetivo na expansão plasmática que o uso isolado das soluções isotônicas devido a sua meia-vida intravascular e sua incapacidade de atravessar as membranas dos capilares (Hauser *et al*, 1980; Shoemaker *et al*, 1981). Pode promover alteração na coagulação sanguínea, observada pela redução da contagem de plaquetas e pelo aumento do tempo de tromboplastina parcial ativado, conseqüente à diminuição do fator VIII (Strauss, 1981), sendo de menor intensidade que aquela produzida pelas dextranas (Mishler, 1984).

Recentemente um novo amido hidroxietílico (HES) 6% com peso molecular intermediário (130.000 Dalton) e baixa taxa de substituição (0,4) têm sido estudado (*Voluven*^R, Fresenius AG, HES 130/0,4). O HES 130/0,4 parece possuir algumas vantagens em relação à farmacocinética e farmacodinâmica como rápida eliminação plasmática e baixo impacto na coagulação sanguínea (Jungheinrich *et al.*, 2002; Felfernig *et al.*, 2003).

As gelatinas são polipeptídeos (Dieterich *et al.*, 1998) com baixo peso molecular, cerca de 35.000 daltons, e suas moléculas são eliminadas rapidamente da circulação (Ring, Messmer, 1977). O fabricante da oxipoligelatina alerta para que seja utilizada com extremo cuidado em pacientes com alterações de coagulação, hipoproteinemia, insuficiência pulmonar e cardíaca, assim como nas alterações renais (Rudloff, Kirby, 1998). No Brasil, são utilizadas soluções a 3,5% de gelatina ligada à uréia (*Haemecel*® e *Isocel*®). Recentemente, uma nova gelatina com peso molecular de 30.000 daltons (*Gelafundin*®, B.Braun) tem sido pesquisada. Uma das principais vantagens deste

produto é a baixa incidência de reações anafiláticas/anafilactóides. Quando avaliadas de forma isolada, a gelatina ligada à uréia parece estar mais associada a estas reações (0,85%), quando comparada à gelatina fluida modificada (0,3%).

A gelatina fluida modificada parece promover aumento dos receptores do complemento e do *burst* oxidativo, fato não observado com a utilização do amido hidroxietílico (HES - 200/0.5) *in vitro* (Welters *et al.*, 2000). A diluição extrema de soluções cristalóides e HES 450/0.7 em cerca de 75% (250 µl sangue/750 µl solução) aumentou o *burst* oxidativo de voluntários saudáveis (Rhee *et al.*, 2000). Quando testado em pacientes humanos submetidos a cirurgia urológica, a gelatina fluida modificada e o HES de diferentes pesos moleculares não alteraram o *burst* oxidativo de neutrófilos, enquanto apenas o HES 70/0.5 diminuiu o *burst* oxidativo (Jaeger *et al.*, 2001).

O aumento da interação leucócito-célula endotelial, além da deterioração da perfusão capilar representa um dos pontos primordiais na disfunção de órgãos no choque séptico. A administração de amido hidroxietílico 6% (130/0.4) parece atenuar a aderência leucocitária induzida pelo lipopolissacarídeo (LPS) quando comparado a solução de cloreto de sódio 0,9% (NaCl 0,9%) (Hoffmann *et al.*, 2002). Estudos *in vitro* demonstraram que o HES (200/0.62) foi competente em reduzir a quimiotaxia de polimorfonucleares através das células endoteliais (Hofbauer *et al.*, 1999) e atenuar a expressão da E-selectina (Collis *et al.*, 1994). Esta característica do amido hidroxietílico, principalmente os de maior peso molecular, sobre as células endoteliais deve-se a diminuição da liberação do Fator de von Willebrand após a ativação com a trombina. Tanto a E-selectina quanto o Fator de von Willebrand são estocados nos mesmo grânulos intracelulares e a diminuição deste fator pelo HES indicaria uma diminuição concomitante da E-selectina (Collis *et al.*, 1994). Nohe' *et al.* (2005)

discorda completamente desta suposição, uma vez que as selectinas ligam-se as estruturas compostas por carboidratos. Polissacarídeos específicos como o HES interferem na ligação das selectinas por mecanismos envolvendo peso molecular e grau de substituição. Estas macromoléculas parecem agir de maneira direta, inibindo de maneira inespecífica a ligação dos polimorfonucleares as células endoteliais de maneira mais efetiva do que interferindo na ativação das células endoteliais.

A gelatina aumentou a expressão de E-selectina e ICAM-1 em células endoteliais umbilicais humanas ativadas. Quando estas células não estavam ativadas, a gelatina promoveu um pequeno aumento na expressão de ICAM-1 e não induziu a expressão de E-selectina, sugerindo que este colóide não propicia uma ativação importante das moléculas de adesão, a não ser que as células endoteliais sejam ativadas também por outros agonistas (Nohe' *et al.*, 2005).

O mecanismo pelo qual a gelatina contribui para a ativação endotelial induzida pelo TNF- α permanece desconhecido. A gelatina contém proteínas na sua matrix extracelular como o colágeno, o qual induz sinais de transdução em diferentes populações celulares (Juliano, Haskill, 1993; Ostrovsky *et al.*, 1998).

Aparentemente, o amido hidroxietílico não apresenta ação pró-inflamatória (Lang *et al.*, 2004). Lang *et al.* (2003) investigaram a reposição de volume com HES *versus* Ringer lactato na liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias em pacientes submetidos à procedimentos abdominais. O estudo mostrou que os valores de IL-6, IL-8 e IL-10 aumentaram em ambos os grupos no período do estudo, mas a liberação de IL-6 e IL-8 foi significativamente menor no grupo HES no 1º dia de pós-operatório. Em contrapartida, o HES (200/0,5) foi comparado ao Ringer lactato e a gelatina 3% frente a liberação de citocinas no choque hemorrágico em ratos e, não apresentou diferença significativa em relação ao cristalóide na liberação de IL-6, IL-10 e TNF- α . Vale

salientar que neste estudo, o grupo da gelatina utilizada (Gelofusine®, B.Braun, Switzerland) apresentou aumento significativo na IL-6 e TNF- α , além da diminuição dos níveis de IL-10, sugerindo resultados compatíveis com reação anafilática (Lee *et al.*, 2005).

O HES parece apresentar relevante proteção *in vivo* nas injúrias microcirculatórias induzidas por endotoxinas. Recente estudo comparou o uso de amido hidroxietílico (130/0,4) e solução de cloreto de sódio a 0,9% durante a endotoxemia normotensiva em hamsters através da administração de LPS. HES 130 kD foi efetivo para prevenir a aderência leucocitária e atenuar a falha na perfusão capilar induzidas pelo LPS, além de reduzir o vazamento macromolecular induzido pela endotoxina, podendo ser um potencial anti-inflamatório quando usado em pacientes endotoxêmicos e normotensos na sepse experimental (Hoffman *et al.*, 2002). Por outro lado, Sillett *et al.* (1997, 1998) comprovaram que a resposta mitogênica e ativação das células T não são inibidas na presença de fluidos de ressuscitação coloidal como amido hidroxietílico (6%, 450.000), dextran 70 (6%, 70.000) e gelatina (4%,30.000 e 3,5%, 35.000) através de experimento *in vitro*. Este fato implica que a imunossupressão associada aos fluidos de ressuscitação citados não está diretamente relacionada a estes colóides pois os mesmos não inibem a cascata de ativação das células T.

2.3 Resposta Inflamatória - Mecanismos da Resposta Imune

Em indivíduos saudáveis a proteção contra a invasão de microorganismos ocorre através da ativação simultânea e inter-relacionada do sistema imune, que compreende a resposta natural (inata ou inespecífica) que é inespecífica e indiferente à natureza antigênica do microorganismo e a resposta adquirida (adaptativa ou específica) (Heeg, Dalpke, 2003).

O sistema imune inato é compreendido por substâncias solúveis como a resposta humoral que inclui o sistema complemento, proteínas de fase aguda e citocinas e, também por elementos celulares, incluindo monócitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células natural “killer”. O sistema imune inato é o responsável por deflagrar a resposta imune adquirida (Bochud, Calandra, 2003).

Agindo de forma integrada e auto-regulada as respostas imunes inata e adquirida promovem o combate à invasão de microorganismos, limpeza de restos teciduais, remodelagem tecidual com proliferação celular e ação angiogênica para o restabelecimento da matriz lesada, promovendo a recuperação do hospedeiro e reduzindo a probabilidade de infecção secundária ou oportunista (Oberholzer *et al.*, 2000; Ayala *et al.*, 2003). A inabilidade na auto-regulação ou desequilíbrio na reação inflamatória pode resultar em crescimento bacteriano incontrolável promovendo episódios de infecções recorrentes ou resposta inflamatória intensa com lesão tecidual, colapso vascular ou falência de múltiplos órgãos ou mesmo resposta hipoinflamatória promovendo a supressão imunológica (Ayala *et al.*, 2003).

Os macrófagos e neutrófilos do sistema imunológico inato formam a primeira linha de defesa contra microrganismos comuns e são essenciais para o controle das infecções bacterianas habituais. Estas células desempenham papel crucial na iniciação e no posterior direcionamento da resposta imune adaptativa (Janeway *et al.*, 2002).

Constantemente, um alto número de polimorfonucleares é liberado da medula óssea para a corrente sanguínea (Shi *et al.*, 2001). Esse número, associado ao poder citotóxico destas células, requer controle preciso para que não ocorram danos teciduais por auto-agressão. Essas células apresentam vida média na circulação de seis horas e, depois deste período, migram para os tecidos ou locais de infecção (Ogura *et al.*, 1999; Shi *et al.*, 2001). O processo de morte celular dos polimorfonucleares, por apoptose e

posterior fagocitose pelos macrófagos, impede que haja liberação de substâncias citotóxicas contidas nessas células, evitando lesões orgânicas (Ogura *et al.*, 1999).

Além da fagocitose, os macrófagos e neutrófilos também produzem uma variedade de ERO's em resposta a substâncias estimulantes de membrana destes leucócitos por meio da atividade da enzima Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase (NADPH oxidase). Os mais importantes são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ânion superóxido (O_2^-), oxigênio singlet (1O_2) e o radical hidroxila (OH \cdot). Estes produtos são resultantes de uma seqüência de reações bioquímicas de alto consumo de oxigênio denominado *burst* oxidativo (Figura 1) (Massoco, 2005). Uma vez estimulados, a maior parte do oxigênio consumido pelos neutrófilos é convertido em ânion superóxido pela enzima NADPH oxidase (Park, Babior, 1997).

A produção das espécies reativas de oxigênio inicia-se com a redução do oxigênio a superóxido, com a NADPH atuando como doador de elétrons. Desta maneira, a produção de NADPH constitui etapa limitante do processo de produção de espécies reativas de oxigênio pelo neutrófilo (Park, Babior, 1997; Park *et al.*, 1997). O ânion superóxido produzido sob estímulo dos neutrófilos é rapidamente convertido em H_2O_2 e radical hidroxil, que contribuem para a atividade microbicida dentro do fagolissomo e no meio extracelular. A quantidade de H_2O_2 não é suficiente para eliminar totalmente as bactérias e outros microorganismos. Contudo, a enzima mieloperoxidase produzida nos grânulos azurofílicos dos neutrófilos, quando combinada ao H_2O_2 gera hipoclorito, que apresenta atividade antimicrobiana mais eficaz. O ânion superóxido também pode ser produzido pela ciclooxigenase como parte do metabolismo do ácido aracônico (Magder, 2006).

Em baixos níveis, os radicais livres podem atuar amplificando a cascata da resposta inflamatória, favorecendo assim a reparação das lesões. No entanto, quando

presentes em níveis muito elevados, podem induzir a lesão de células endoteliais e de outros tipos celulares agravando o dano e a lesão inicial (Janeway *et al.*, 2002). As espécies reativas de oxigênio têm a capacidade de influenciarem várias vias de sinalização intercelular, fundamentais para o crescimento celular normal e para a resposta inflamatória, sob condições fisiológicas e patofisiológicas, sendo que a liberação exacerbada destes radicais pode causar dano tecidual e morte celular (Finkel, 1998; Thannickal, Fanburg, 2000; Finkel, Holbrook, 2000; Forman *et al.*, 2002; Droge, 2002). Apesar das EROs serem potencialmente tóxicas, são fatores essenciais no metabolismo normal (Magder, 2006).

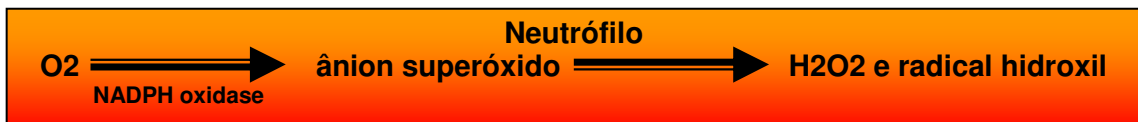


Figura 1: Reação representativa do *burst* oxidativo.

Fonte: Adaptado de Magder, 2006.

Através da produção de enzimas anti-oxidantes como a superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase-desmutase, os neutrófilos protegem-se dos efeitos nocivos das espécies reativas de oxigênio. A superóxido desmutase catalisa a reação de dois ânions superóxido e dois H^+ para H_2O_2 (reduzido) e O_2 (oxidado) (Magder, 2006). O peróxido de hidrogênio não é por si só considerado um radical, mas é considerado uma espécie reativa de oxigênio. É considerado mais estável que o ânion superóxido e pode difundir-se através das membranas. Na presença do íon Ferro, o H_2O_2 pode ser reduzido para o radical reativo OH^\cdot .

Trabalhos demonstram que as EROs participam dos processos de inflamação, morte celular e tecidual, transformação neoplásica, aterosclerose e envelhecimento (Ley, Arfors, 1982; Hammond, Hess, 1985). As espécies reativas de oxigênio geradas pelos neutrófilos desempenham um papel importante como oxidantes microbicidas, ou como mediadores da inflamação e da lesão tecidual (Babior *et al.*, 1995).

Um dos maiores efeitos tóxicos da produção excessiva de ERO's é o dano na membrana celular pelo processo de peroxidação lipídica. As ERO's atacam os grupos de carbono das moléculas lipídica, criando uma reação que altera a forma da membrana. O resultado é a desregulação do cálcio, essencial para a sinalização intercelular. A peroxidação lipídica também pode alterar o DNA e as proteínas celulares (Magder, 2006). A regulação dos níveis intra e extracelulares de O_2^- e H_2O_2 promove a sinalização dos mecanismos celulares. Nesta situação, as ERO's não são espécies destrutivas, mas reguladores do processo metabólico normal (Finkel, 1998; Finkel, Holbrook, 2000). As ERO's também possuem importante função na sinalização intracelular do TNF- α , que ocorre através da produção do ânion superóxido produzido pela NADPH oxidase e envolve a regulação da atividade transcricional do NF-kB (Ferro *et al.*, 1997; Lum, Roebuck, 2001).

A porcentagem de células que realizam fagocitose, a quantidade de bactérias internalizadas, além dos derivados ativos de oxigênio gerados durante a fagocitose e o *burst* oxidativo são de grande interesse no estudo da atividade microbicida e do metabolismo oxidativo dos leucócitos (Massoco, 2005).

A citometria de fluxo é um método conveniente e prático para estudar o *burst* oxidativo celular quando comparado com outras técnicas bioquímicas. O *burst* oxidativo expresso na geração de peróxido de hidrogênio, pode ser monitorado quantitativamente por citometria de fluxo usando-se como reagente o 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA), o *Staphylococcus aureus* marcado com iodeto de propídeo e o miristato-acetato de forbol (PMA) (Hasui *et al.*, 1989; Raidal *et al.*, 1998). O método fluorométrico para mensuração do peróxido de hidrogênio é baseado na oxidação do DCFH-DA não fluorescente, pelo peróxido de hidrogênio e pela peroxidase, que o transforma em um composto fluorescente, o 2',7'-diclorofluoresceína.

Este composto é polar e não pode se difundir para fora da célula. Por este motivo, é possível detectar a oxidação do DCFH-DA nos neutrófilos e macrófagos utilizando-se análises unicelulares pela citometria de fluxo (Caldwell, Taylor, 1986). O PMA é um estímulo extremamente forte para os neutrófilos, pois atua na enzima fosfoquinase C (PKC). O PMA entra no neutrófilo, liga-se a Proteína Kinase C (PKC) no citoplasma e estimula o sistema NADPH oxidase (Zhao *et al.*, 2003).

2.4 Mediadores Inflamatórios

O conceito da resposta inflamatória é baseada na codificação de gênese para a síntese de pequenas moléculas mediadores que se auto-regulam durante a inflamação (Dinarello, 2000). Após o reconhecimento da estrutura molecular da membrana do microorganismo patogênico, são desencadeadas respostas imunes subseqüentes pela via NF- κ B com ativação e transcrição de vários genes promovendo uma cascata de eventos. Está inserido neste contexto a indução enzimática via óxido nítrico sintetase (iNOS), via Fosfolipase A2 e via Ciclooxigenase-2 (COX-2); síntese de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α ; IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18); síntese do fator ativador de plaquetas, leucotrienos, prostanóides e quimiocinas (Dinarello, 2000; Senftleben, Karin, 2002; Wright, Christman, 2003).

Interleucinas

As citocinas são pequenos polipeptídeos (\pm 25 kDa) produzidos em resposta a vários estímulos, entre eles, lesão tecidual e infecção (Windsor *et al.*, 1993; Kim, Deutschman, 2000; Cunneen, Cartwright, 2004). A nomenclatura das citocinas é baseada no seu local de origem e sua ação é iniciada por uma nova transcrição gênica resultante da ativação celular (Abbas *et al.*, 2000). Citocinas produzidas por monócitos

são denominadas monocinas e as produzidas pelos linfócitos, linfocinas (Hack *et al.*, 1997). A palavra interleucina foi utilizada para descrever citocina produzida pelo leucócito, sendo o alvo de ação o próprio leucócito (Hack *et al.*, 1997). Atualmente o termo é empregado para citocinas produzidas independente da origem e do alvo (Abbas *et al.*, 2000). Essas glicoproteínas regulam as respostas imunes por meio de sinalização entre as células e compartilham os sinais intracelulares com receptores distribuindo informações sobre o tipo de infecção e recrutando células efetivas para a defesa do organismo (Tizard, 2002; Heeg, Dalpke, 2003). Por exemplo, a IL-1 e o TNF- α recrutam neutrófilos e induzem a formação de moléculas de adesão endotelial, mecanismo essencial para adesão dos leucócitos na superfície endotelial e posterior migração para o tecido (Dinarello, 2000; Senftleben, Karin, 2002).

A concentração sérica de citocinas é baixa ou indetectável em indivíduos saudáveis, mas sua produção é estimulada durante a invasão ao hospedeiro por microorganismos patogênicos (Netea *et al.*, 2003).

As citocinas são sintetizadas a partir de células primárias mediante a ativação da imunidade inata e adquirida, sendo o principal meio de comunicação intercelular contra a invasão de microorganismos (Oberholzer *et al.*, 2000). Os linfócitos, macrófagos, monócitos, células endoteliais, hepatócitos, fibroblastos, células da micróglia e astrócitos são células produtoras de citocinas (Goldman *et al.*, 1998).

Estes mediadores inflamatórios são liberados apenas na presença de um estímulo. Quando liberados, por possuírem uma meia-vida curta, sua função se limita a atividade biológica que possuem, sendo uma das mais importantes, a comunicação entre as células (Anderson, Blumer, 1997). A síntese das citocinas é um evento auto-limitado, ou seja, elas não são estocadas permanentemente. Quando ocorre o estímulo, as citocinas são sintetizadas e liberadas e após a resolução do processo ativador, a

concentração sérica diminui a níveis baixos ou indetectáveis. Além disso, várias citocinas podem produzir o mesmo efeito funcional e desencadeiam o efeito em cascata, onde uma citocina estimula a produção de outras (Abbas, Lichtman, 2005).

Quando o hospedeiro é invadido por um patógeno intracelular, principalmente os macrófagos são ativados a secretar TNF, IL-1, IL-12 e IL-18 (Figura 2). As interleucinas IL-12 e IL-18 ativam as células T e as células natural “killer” a produzir interferon- γ (IFN- γ). O IFN- γ e IL-12 induzem a diferenciação de células CD4 ao fenótipo Th1, induzindo a produção de linfotóxina- α . Além disso, o IFN- γ apresenta habilidade para inibir a diferenciação das células CD4 em fenótipo Th2, responsável por guiar a síntese de IL-4, IL-5 e IL-10 (Netea *et al.*, 2003).

Foi demonstrado que alguns procedimentos cirúrgicos provocam não somente uma resposta pró-inflamatória como também anti-inflamatória (McBride *et al.*, 1995). Isto inclui ativação do complemento, da coagulação, das cascatas fibrinolíticas, ativação de neutrófilos pelas citocinas com degranulação e liberação de proteases, produção de radicais de O₂ e a síntese de várias citocinas de células mononucleares como TNF α , IL-1, IL-6 (Butler *et al.*, 1993), IL-2, IL-4, IL-5, IL-8 (Mayers, Johnson, 1998), IL-12 (Frangogiannis *et al.*, 1998) e IL-13 (Yoshidome *et al.*, 1999).

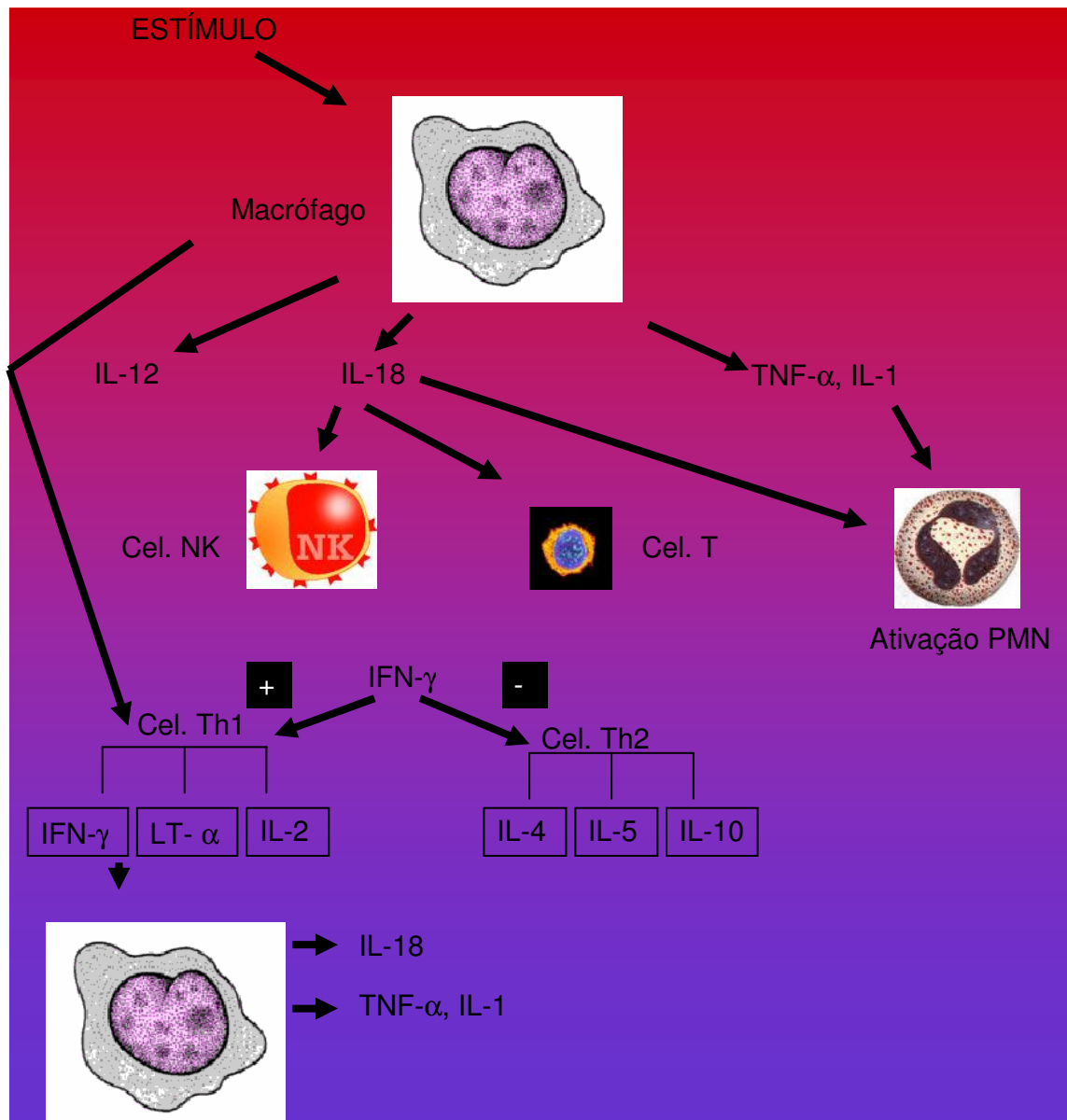


Figura 2: Ativação das citocinas pró-inflamatórias
 Fonte: Adaptado de Netea *et al.*, 2003.

Citocinas Pró-Inflamatórias

a) *TNF- α*

A origem deste nome vem da observação de que esta citocina induz a necrose de tumores, baseado na trombose intravascular causada pela diminuição das propriedades anti-coagulantes normais do endotélio (Abbas *et al.*, 2000). O *TNF- α* é o principal mediador da resposta inflamatória aguda e é a única citocina capaz de induzir, de maneira isolada, a SIRS (Hebert *et al.*, 1995). Os fagócitos mononucleares ativados são

os principais produtores de TNF- α (Abbas *et al.*, 2000) e o estímulo mais importante para a produção desta citocina é o LPS. Em decorrência deste fato, ocorre intensa produção de TNF- α em infecções causadas por bactérias gram-negativas que liberam LPS (Larrick, Kunkel, 1988; Spooner *et al.*, 1992). A principal função do TNF- α é induzir o recrutamento de polimorfonucleares e monócitos para os locais de infecção e ativá-los (Spooner *et al.*, 1992; Ksontini *et al.*, 1998). O TNF- α é mediador do processo de recrutamento, induzindo a expressão de integrinas nos leucócitos e de selectinas nas células endoteliais (Abbas *et al.*, 2000). Essa citocina também é responsável por mediar a quimiotaxia dos leucócitos, através da indução da liberação da IL-8 pelos macrófagos e células endoteliais (Abbas *et al.*, 2000) e, age sobre os monócitos, estimulando a liberação da IL-1 (Spooner *et al.*, 1992; Ksontini *et al.*, 1998).

b) IL-1

Existem 3 (três) formas relacionadas de IL-1 (IL-1 α , IL-1 β e IL-1Ra) codificadas por genes ligados proximamente. Embora sua principal fonte seja o macrófago ativado, também é produzida pelas células de Langerhans, células T, células B, células NK, endotélio vascular, fibroblastos e queratinócitos. As três formas de IL-1 agem nas células T, células B, células NK, neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas, fibroblastos, células endoteliais, hepatócitos e monócitos (Tizard, 2002). Juntamente com o TNF- α , a IL-1 promove adesão de células leucocitárias ao endotélio, liberando proteases e metabólitos da cadeia aracdônica e possuindo efeitos na modulação e expressão de outras citocinas (Akamine *et al.*, 2000). A IL-1 é um componente importante das respostas inflamatória e imune. Além das anafilotoxinas do complemento, ela pode ser induzida também por endotoxinas (LPS) e por outra citocina. Febre, neutrofilia, anorexia, sonolência (Christman *et al.*, 1998) e liberação da

proteína C-reativa são mediadas pela IL-1. Células em cultura tratadas com TNF- α ou IL-1 tornam-se muito adesivas em neutrófilos. Essa adesividade ocorre pela expressão da molécula de adesão ICAM-1, induzida pela IL-1 e outras interleucinas. Igualmente, a IL-1 induz a liberação de conteúdo específico dos grânulos de neutrófilos humanos e a síntese de IL-6, pelos monócitos. Parece que, durante a maior parte das inflamações agudas, ela não é sistematicamente medida. Uma possível explicação para isso encontra-se nos diferentes métodos de avaliação usados e também à presença de inibidores plasmáticos específicos que agem como antagonistas da IL-1. Mesmo essa dificuldade de detecção da IL-1 circulante não excluiria sua produção local. Um estudo de Roth-Isigkeit *et al.*, (1999) demonstrou que essa flutuação deve estar ligada a hemodiluição e que quando os níveis de citocinas não são corrigidos para levar-se em conta este fato, as concentrações medidas são muito menores e variam muito mais que as corrigidas.

A IL-1 apresenta efeito fugaz porque concomitante ao estímulo de sua produção há o estímulo para a síntese de IL-1Ra que vai inibir a síntese de IL-1. Por conta deste feedback negativo, os efeitos deletérios da IL-1, normalmente são bloqueados (Loisa *et al.*, 2003).

O sinergismo entre o TNF- α e a IL-1 é um fenômeno comum na inflamação. Ambas são produzidas nos locais de inflamação e podem apresentar correlação entre seus níveis e gravidade da doença. A IL-1 isolada e a IL-1 associada ao TNF- α estimula o aumento da prostaglandina PGE₂, provocando a dor observada nos processos inflamatórios (Dinarello, 2000).

c) IL-6

A interleucina IL-6 é produzida pelos macrófagos, células T e B, células estromais da medula óssea, células endoteliais vasculares, fibroblastos, queratinócitos e células mesangiais. A IL-6 age nas células T, células B, nos hepatócitos e células estromais da medula óssea. Promove a produção de IL-2 e de IL-2R e diferenciação de células T, além de estar envolvida na maturação final das células B em plasmócitos. Age como cofator com a IL-1 na síntese de Imunoglobulina M (IgM) e com a IL-5 na síntese de Imunoglobulina A (IgA), sendo o principal estimulador da resposta de fase aguda (Tizard, 2002). Está fortemente relacionada à produção e liberação das proteínas de fase aguda dos hepatócitos (proteína C reativa, selectinas) e pode induzir febre e causar a liberação de hormônio adrenocorticotrófico. A IL-6 tem meia vida curta e apresenta pico plasmático entre 6 a 12 horas após o estímulo desencadeador (Abbas; Lichtman, 2005). A IL-6 pode ser um marcador adequado de dano tissular e seus níveis podem indicar um prognóstico de choque séptico, pois existe uma correlação comprovada entre suas concentrações e a gravidade do quadro clínico do paciente (Hack *et al.*, 1989; Calandra *et al.*, 1991; Damas *et al.*, 1992; Casey, 1993; Hauser *et al.*, 1998; Loisa *et al.*, 2003). Estudo experimental de Casey (1993) sugere que a IL-6 seria mais um marcador que um mediador, representando o grau de inflamação das células endoteliais. Curiosamente, parece existir uma correlação inversa entre as concentrações de IL-6 e de lipídios no plasma, o que também poderia explicar a variabilidade dos resultados obtidos de estudo para estudo. O mecanismo proposto para explicar o fato é a neutralização da endotoxina pela fixação de lipídios, sobretudo os de alta densidade.

A IL-6, associada ao TNF- α e IL-1 β possui um amplo espectro de atividades biológicas que auxiliam a coordenar as respostas do organismo contra a infecção (Figura 3). Estas citocinas ativam os hepatócitos para sintetizar as proteínas da fase

aguda (proteína C-reativa, proteína amilóide sérica e lecitina ligadora de manose), as quais irão ativar o sistema complemento e promover a opsonização. A importância deste fato é que estas proteínas possuem a mesma propriedade funcional do anticorpo. No entanto, estas proteínas, ao contrário dos anticorpos, não possuem diversidade estrutural e são produzidas em resposta a qualquer estímulo que ative a liberação de TNF, IL-1 e IL-6, ou seja, sua síntese não é induzida e orientada como a de um anticorpo (Janeway *et al.*, 2002). As citocinas citadas ativam o endotélio da medula óssea para liberar neutrófilos, promovendo leucocitose e fagocitose (Janeway *et al.*, 2002).

Estas citocinas também ativam as células endoteliais que induzem a expressão de moléculas de adesão (ICAM-1 – molécula de adesão intercelular tipo 1; ELAM 1 – molécula de adesão endotelial tipo 1; VCAM 1 – molécula de adesão vascular tipo 1), além de ativar a família das selectinas, iniciando a interação dos leucócitos com as células endoteliais (Dinarello, 1991; Janeway *et al.*, 2002).

d) IL-8

A IL-8 é um pequeno peptídeo quimioatraente, ou seja, é uma citocina que recruta neutrófilos do sangue para os locais de infecção. Atuam no “rolling” dos leucócitos, induzindo uma mudança conformacional nas integrinas leucocitárias, permitindo que o leucócito atravesse as paredes dos vasos para o extravasamento (Dinarello, 2000). Adicionalmente, a IL-8 está envolvida na quimiotaxia de células T e induz a produção de IFN- γ , importante citocina anti-viral (Oberholzer *et al.*, 2000).

Esta citocina é secretada por macrófagos ativados, monócitos e células de Kupffer (Oberholzer *et al.*, 2000) e, assim como o TNF- α e a IL-1 requer ativação do fator transcricional nuclear (Jean-Baptiste, 2007).

A IL-8 parece estar envolvida na síndrome da angústia respiratória do adulto (SARA). Supõe-se que a produção dessa interleucina dentro dos alvéolos seja feita pelos macrófagos. A interação entre os neutrófilos e endotélio alveolar ocorre quando as células do endotélio e os neutrófilos estão ligados através das moléculas de adesão que se expressam sob a influência das interleucinas. Há, então, liberação de radicais livres de oxigênio e proteases que danificam a microvasculatura pulmonar (Janeway *et al.*, 2002).

f) IL-10

A mais bem estudada e conhecida citocina anti-inflamatória é a IL-10. Ela é produzida por macrófagos e células dendríticas e está envolvida no controle da reação imune inata. A IL-10 inibe a função dos macrófagos e a síntese de citocina como TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8, IL-12, IFN- γ (Abbas, Lichtman, 2005). Observa-se um aumento de sua concentração e do receptor antagonista do IL-1 (IL-1ra) concomitante à diminuição das concentrações das citocinas pró-inflamatórias (Janeway *et al.*, 2002). Taniguchi *et al.* (1999) demonstraram que a resposta adequada de IL-10 pode ser um efeito protetor na SIRS e que a relação IL-6/IL-10 elevada foi relacionada ao pior prognóstico.

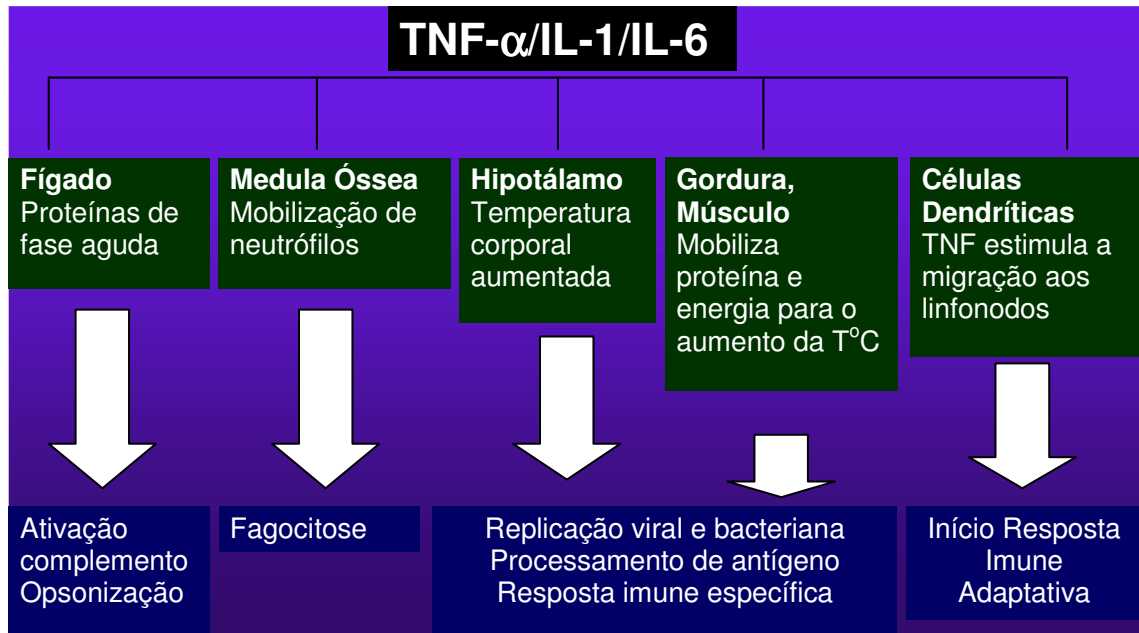


Figura 3: Função relacionada a atividade conjunta do TNF, IL-1 e IL-6.
 Fonte: adaptado de Janeway *et al.*, 2002.

Ciclooxigenase-2 (COX-2)

A ciclooxigenase é a enzima responsável pela conversão do ácido aracdônico em prostanóides. A enzima ciclooxigenase existe em duas formas, a COX-1 e COX-2. A COX-1 se expressa em muitos tecidos e está envolvida na homeostase de várias funções fisiológicas, tais como proteção da mucosa gástrica, hemodinâmica renal e regulação da agregação plaquetária (Jones *et al.*, 1993; DuBois *et al.*, 1994). A COX-2 pode ser induzida por vários estímulos como citocinas, hormônios, fatores de crescimento, ésteres de forbol e promotores tumorais (Van Rees *et al.*, 2002; Ye *et al.*, 2004; Altorki, 2004; Dvory-Sobol *et al.*, 2006), sendo expressa caracteristicamente nas células envolvidas no processo inflamatório, como macrófagos, monócitos e sinoviócitos (Penglis *et al.*, 2000). Desta forma, LPS e citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α e a IL-1 podem induzir a COX-2. Inclusive, um dos efeitos universais da IL-1 é a indução da expressão genética para a Fosfolipase A2 e COX-2. A IL-1 induz a transcrição da COX-2 e parece possuir um pequeno efeito no aumento da produção de COX-1

(Dinarello, 2000). Os glicocorticóides e a IL-10, entre outros, podem inibir a expressão da enzima COX-2 (Onoe *et al.*, 1996; Niiro *et al.*, 1997;).

Os produtos da via da COX-2 podem exercer função regulatória na sua expressão através de um feedback positivo, por exemplo, a prostaglandina E₂, principal produto da COX-2, aumenta a expressão da enzima. A expressão da COX-2 em macrófagos e monócitos demonstra que esta isoforma está envolvida em processos patológicos como na inflamação aguda e crônica (Janeway *et al.*, 2002). Achados recentes demonstraram que a COX-2 pode ser expressa constitutivamente nos vasos renais, nas células intersticiais dos rins, no ducto coletor e na porção delgada da alça de Henle, na traquéia e no sistema nervoso central. A COX-2 pode também ser mediadora nas funções fisiológicas do endotélio vascular. A liberação da prostaciclina (PGI₂), resultante da metabolização do ácido aracdônico pela COX-2 endotelial desempenha papel importante no mecanismo de defesa homeostático que promove vasodilatação, fibrinólise e limita a ativação plaquetária (Salinas *et al.*, 2007).

No início do processo de inflamação, ocorre ativação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. Neste período, ocorre indução, em macrófagos e neutrófilos de enzimas importantes que geram quantidade maciça de produtos quando comparadas à forma homóloga constitutiva. Uma destas enzimas é a COX-2, responsável pela produção de prostanóides como troboxana, protaciclina e prostaglandinas (Mackay, 2000). Wang *et al.* (1999) demonstram que o LPS, o TNF- α e a IL-1 são fatores ativadores da expressão de COX-2 pelos polimorfonucleares.

E-selectina

A E-selectina é uma glicoproteína pertencente à família das selectinas, presente apenas no endotélio ativado. A presença de mediadores inflamatórios aumenta a

habilidade de células endoteliais atuarem como superfície adesiva para a migração de leucócitos, através do aumento da síntese de pelo menos três moléculas de adesão distintas: a E-selectina, a ICAM-1 e a VCAM-1 (Fairburn *et al.*, 1993; Hardy *et al.*, 1998). A E-selectina é uma glicoproteína que não é expressa em células endoteliais inativadas (Fairburn *et al.*, 1993; Robinson *et al.*, 1999). Esta molécula atua como mediador na aderência de neutrófilos, monócitos e certos linfócitos por ligação a seus receptores (Janeway *et al.*, 2002).

As células recrutadas para o pulmão liberam um amplo espectro de mediadores inflamatórios e de enzimas, responsáveis pelo desencadeamento e manutenção da inflamação pulmonar (Wagner *et al.*, 2002; Wheeler, Bernard, 2007). Portanto, a interação leucócito-endotélio é relevante para o processo inflamatório pulmonar se estabelecer (Ware, Matthay, 2000). O aumento da expressão de moléculas de adesão leucocitária parece modular o acúmulo de neutrófilos pulmonares na inflamação (Kyriakides *et al.*, 2001; Kuzu *et al.*, 2002). A família das selectinas (E, P, L-selectina) possui papel significativo nas interações celulares nos leucócitos e endotélio. Expressas na superfície de células endoteliais estão envolvidas na adesão de leucócitos ao endotélio. As moléculas de adesão pertencentes à família das imunoglobulinas (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1) se ligam às integrinas expressas nas superfícies dos leucócitos (LFA-1, mac-1 e VLA-4) (Janeway *et al.*, 2002).

A liberação de citocinas pelos macrófagos (TNF- α , IL-1) promove a externalização dos grânulos nas células endoteliais (corpos de Weibel-Palade) com conseqüente expressão da P-selectina no endotélio ativado. Cerca de duas horas depois, a E-selectina é expressa na superfície da célula endotelial e ocorre o reconhecimento e interação da região sialil-Lewis (oligossacarídeo presente na superfície dos neutrófilos). As integrinas leucocitárias (LFA-1 e Mac-1) possuem baixa capacidade de adesão, mas

quando expostas a IL-8 sofrem uma mudança conformacional. Além disso, o TNF- α promove forte indução da ICAM-1 e a integrina LFA-1 dos neutrófilos e monócitos circulantes liga-se a ICAM-1. Neste momento, tem-se a aderência do leucócito ao endotélio. Com a ação da molécula de adesão plaquetária-1 (PECAM - expressão nos leucócitos e junções intercelulares do endotélio) ocorre o extravasamento com posterior migração dos leucócitos para os tecidos sob influência das quimiocinas (Janeway *et al.*, 2002).

A função das selectinas na lesão pulmonar mediada por neutrófilos está descrita na literatura (Fries *et al.*, 1993; Mulligan *et al.*, 1994; Hansbrough *et al.*, 1996; Fan *et al.*, 1998; Rivera-Chavez *et al.*, 1998). Alam *et al.* (2000) demonstraram que o choque hemorrágico, por si só, não resulta no aumento da expressão das selectinas no pulmão e esta expressão foi influenciada por diferentes fluidos de reposição volêmica.

2.5 Cascata Inflamatória

O conceito que algumas citocinas funcionam como pró-inflamatórias, enquanto outras funcionam como antiinflamatórias é fundamental para o entendimento do mecanismo da resposta imune inata (Dinarello, 2000). A produção de citocinas pró e antiinflamatórias é rigorosamente controlada por um complexo mecanismo de feedback (Ng *et al.*, 2003).

Citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , a IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 e IFN- γ iniciam efetivamente a resposta inflamatória inicial frente ao estímulo (Abbas, Lichtman, 2005). O TNF- α e a IL-1 são indutores das moléculas de adesão endotelial. Ainda, o TNF- α , IL-1 e IL-6 são responsáveis pela elevação de proteínas de fase aguda, que inclui a proteína C-reativa. As citocinas associadas, quando liberadas, promovem um estado inflamatório usualmente não observado em um indivíduo saudável. Alguns

fatores podem ser o estímulo ativador para expressão dos genes destas citocinas, entre eles, a endotoxina, trauma, isquemia e câncer (Dinarello, 2000) (Figura 4).

O estado de hiperinflamação decorrente da produção excessiva destes mediadores inflamatórios pode conduzir o paciente a vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, hipotensão, choque e falência de múltiplos órgãos (Oberholzer *et al.*, 2000; Netea *et al.*, 2003;).

Mecanismos anti-inflamatórios associados a atenuação da resposta imune promovem o equilíbrio do sistema através do bloqueio do processo inflamatório ou supressão da intensidade da cascata inflamatória, envolvendo as citocinas antiinflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13, IL-1Ra e fator transformador de crescimento-TGF- β). Estas citocinas suprimem a produção de TNF- α , IL-1 e IL-8 com conseqüente diminuição da expressão das moléculas de adesão e diminuição da interação leucócito-endotélio (Abbas, Lichtman, 2005).

Após o estímulo ativador, o sistema imune responde com elevação das citocinas pró-inflamatórias. Logo após, como mecanismo de compensação, há o estímulo para a liberação de citocinas antiinflamatórias. Por fim, têm-se os mediadores pró-inflamatórios em concentração sérica baixa, enquanto os anti-inflamatórios estão elevados (Carrigan *et al.*, 2004).

O balanço entre os efeitos das citocinas inflamatórias e antiinflamatórias determinam a homeostase da doença. Se o equilíbrio das citocinas não é estabelecido pode haver uma resposta pró-inflamatória intensa, mediada por grande extravasamento de citocinas pró-inflamatórias, levando o paciente a um quadro de hiperinflamação caracterizado de SIRS. Em outra situação pode haver resposta anti-inflamatória intensa e sustentada, levando o paciente a um estado de hipoinflamação, com evolução para supressão do sistema imune.

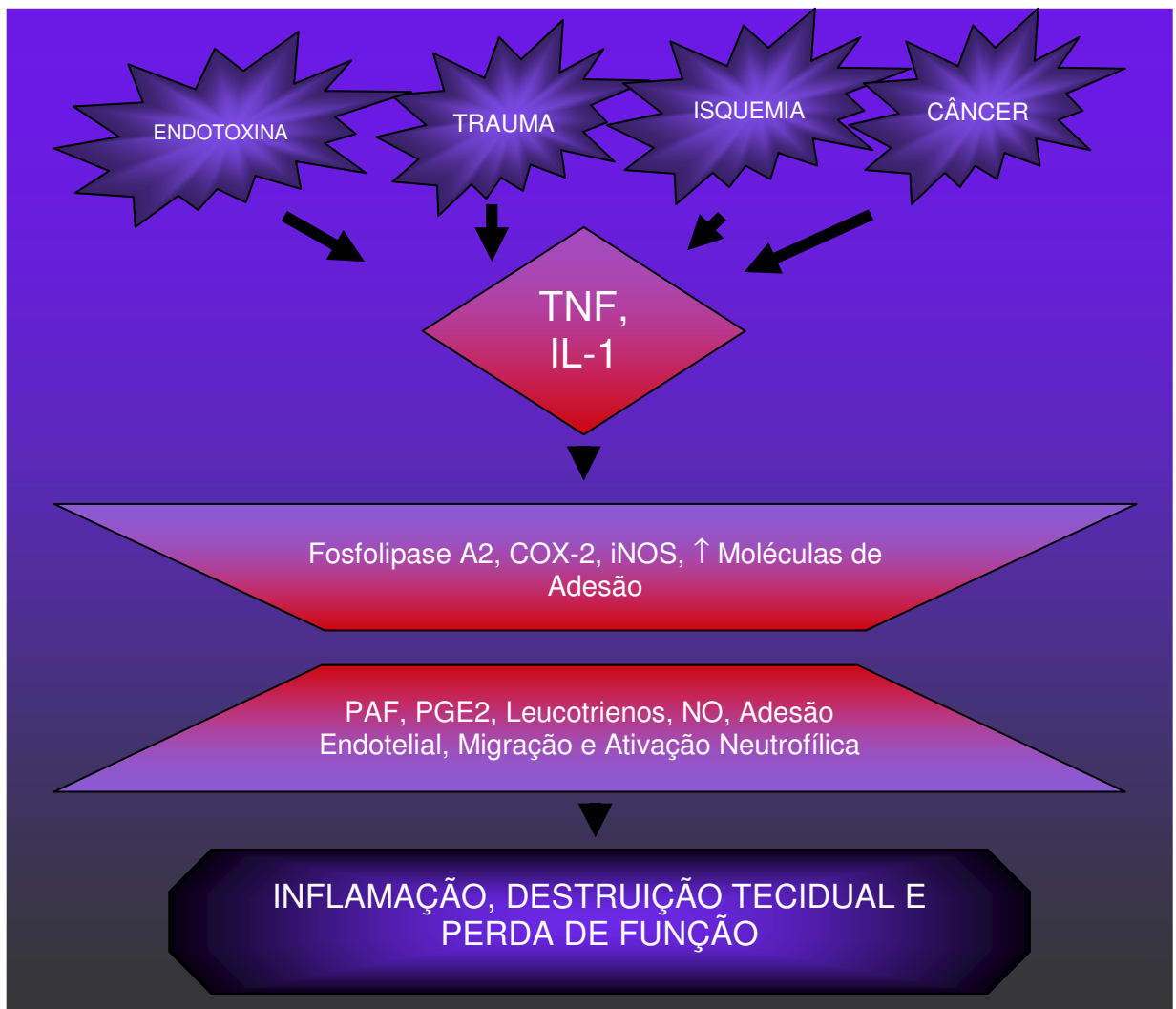


Figura 4: Interação dos mecanismos na cascata inflamatória.

Fonte: Adaptado de Dinarello, 2000.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi determinar e quantificar a resposta inflamatória de suínos submetidos à hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) realizada com o emprego de solução de cloreto de sódio 0,9% ou amido hidroxietílico 6% ou gelatina fluida modificada. Para tanto, procedeu-se a:

- Mensuração dos níveis séricos da interleucina-1 (IL-1- β), interleucina-6 (IL-6), fator α de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-10 (IL-10).
- Mensuração da interleucina-8 (IL-8) no lavado broncoalveolar.
- Determinação do *burst* oxidativo dos neutrófilos circulantes.
- Determinação do *burst* oxidativo de células pulmonares, obtidas no lavado broncoalveolar.
- Análise histopatológica do tecido pulmonar.
- Análise da expressão de COX-2 e E-selectina das células pulmonares.

MATERIAS E MÉTODOS

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Local de realização do experimento

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Investigação Médica – LIM08 – Laboratório de Anestesiologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por meio do processo auxílio pesquisa 05/58987-9.

As mensurações de citocinas, assim como a realização do ensaio do *burst* oxidativo foram efetuados no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

A técnica de imunistoquímica foi realizada no Genoa Laboratório de Patologia Molecular e Celular Veterinária.

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de ética para análise de projeto de pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas e Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.2 Animais

Foram utilizados 39 suínos, jovens, fêmeas, pesando entre 30 a 35 Kg, provenientes de granjas de produção comercial e alto padrão sanitário. Antes da inclusão no estudo, realizou-se hemograma completo dos animais na própria granja, sendo descartados aqueles que apresentassem qualquer anomalia.

Destes 39 animais, 9 foram utilizados em estudos pilotos e 30 durante a fase experimental, dos quais em apenas 28 foram coletados todos os parâmetros propostos. Um animal foi descartado após o final do experimento, por apresentar ativação neutrofílica intensa em todos os momentos do estudo. Outro animal apresentou fibrilação ventricular seguido de óbito durante o experimento.

4.3 Procedimentos

Jejum

Os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 3 horas antes do procedimento anestésico.

Procedimento Anestésico

Todos os animais foram pré-medicados com cetamina¹ na dose de 5 mg.Kg⁻¹ e midazolam² na dose de 0,25 mg.Kg⁻¹ via intramuscular. Decorridos 15 minutos, a veia marginal da orelha foi cateterizada com cateter³ 20G para administração de fluidoterapia de acordo com o grupo estabelecido. A indução anestésica foi efetuada por meio da administração de propofol⁴ na dose de 5 mg.Kg⁻¹ pela via intravenosa. Após a intubação orotraqueal dos animais com sonda de diâmetro apropriado, realizou-se a manutenção anestésica com o fornecimento de isoflurano⁵ na concentração de 1V% administrado por meio de vaporizador calibrado⁶. Logo após a indução anestésica, foi estabelecida a ventilação controlada na modalidade volume controlado, com volume corrente de 8-10 ml/Kg, fração inspirada de oxigênio de 50% e manutenção da EtCO₂ entre 35 e 45 mmHg. O bloqueio neuromuscular foi obtido com a administração de pancurônio⁷ em bolus na dose de 0,1 mg.Kg⁻¹ IV seguida de infusão contínua deste agente na dose de 5 mcg/Kg.min⁻¹ utilizando-se bomba de infusão para seringas⁸. A temperatura corporal foi mantida entre 37°C e 38°C por meio da utilização de colchões térmicos⁹.

¹ Cetamina 50mg/ml - Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda

² Dormonid 5mg/ml - ROCHE Químicos e Farmacêuticos S/A

³ Cateter intravenoso Nipro – Nipro Medical LTDA.

⁴ Propovan 10mg/ml - Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda

⁵ Forane 100mg/ml – Abbott Laboratórios do Brasil

⁶ Cíceros; Dräger, Lübeck, Alemanha

⁷ Pavulon 4mg/ml – Akzo Organon

⁸ Bomba de Infusão Volumétrica de Seringa ST 690 – Samtronic Infusion Systems

⁹ Medi-therm II, Gaymar Industries, Orchard Park, NY, USA

Monitoração e Instrumentação

Uma vez que os animais se encontravam em plano de anestesia e, após a infiltração de 5 ml de lidocaína 2% sem vasoconstrictor,¹⁰ realizou-se a dissecação da veia jugular direita para introdução de um cateter de artéria pulmonar¹¹ acoplado ao monitor de débito cardíaco. Para isso, os animais foram posicionados em decúbito dorsal e procedeu-se a dissecação da referida veia e introdução do cateter. O cateter de artéria pulmonar foi preenchido com solução salina previamente heparinizada, sendo o transdutor de pressão posicionado ao nível da linha axilar média e zerado à pressão atmosférica. Após observação da curva característica de átrio direito, procedeu-se a insuflação do balão com 1,5 ml de ar, continuando a introdução do cateter no ventrículo direito e artéria pulmonar. O cateter foi fixado quando observou-se o “achatamento da curva” e, portanto a pressão de oclusão da artéria pulmonar foi considerada.

Após a infiltração local de 5 ml de lidocaína 2% sem vasoconstrictor, uma sonda uretral¹² n° 8 foi introduzida na artéria femoral direita após prévia dissecação sendo acoplada a um transdutor de pressão para obtenção da pressão arterial sistêmica. Para obtenção das pressões foi utilizado monitor multiparamétrico com dois canais de pressão¹³. A veia femoral direita foi dissecada com subsequente introdução de uma sonda uretral n° 8 para infusão das soluções de reposição durante a hemodiluição. A veia e a artéria femoral do membro contra-lateral foram dissecadas para introdução de sonda uretral n° 8 para a retirada do sangue e infusão de fluido durante a hemodiluição.

A bexiga do animal foi acessada por sondagem uretral e um equipo¹⁴ foi conectado a sonda para drenagem da urina.

¹⁰ Lidoston sem vaso 20mg/ml – Ariston Indústria Química e Farmacêutica Ltda

¹¹ Cateter de Artéria Pulmonar 7.5F, Baxter, Irvine, CA, USA

¹² Sonda uretral 08 - Embramed

¹³ Viridia Modelo 885 – Hewlett-Packard, Andover, MA, USA

¹⁴ Equipo macrogotas – Compojet Biomédica Ltda

Para avaliação da ventilação foram mensuradas continuamente a pressão parcial de dióxido de carbono no ar expirado (EtCO₂) através do capnógrafo⁶ e a saturação periférica da hemoglobina através do oxímetro de pulso posicionado na língua do animal¹³.

Procedimento de Hemodiluição

Após a instrumentação do animal, procedeu-se a um período de estabilização durante 30 minutos e, então, foram coletados os parâmetros hemodinâmicos e de ventilação, além de amostras de sangue para o estudo da resposta inflamatória. À partir deste ponto, os animais foram randomizados da seguinte maneira:

Grupo I – Controle (C, n = 7): os animais deste grupo não foram submetidos ao procedimento de HNA, sendo apenas anestesiados e instrumentados utilizando como fluidoterapia solução de cloreto de sódio 0,9%¹⁵ na taxa de infusão de 5ml/Kg.h⁻¹.

Grupo II – Amido Hemodiluição (HNA + Amido, n = 7): os animais foram submetidos ao procedimento de hemodiluição normovolêmica aguda e a reposição volêmica foi realizada com a solução de amido hidroxietílico 6%¹⁶ com peso molecular de 130.000 daltons e grau de substituição de 0,4 na proporção de 1 ml de amido para cada 1 ml de sangue retirado.

Grupo III – NaCl 0,9% Hemodiluição (HNA + NaCl, n = 7): os animais deste grupo foram submetidos ao procedimento de hemodiluição normovolêmica aguda e a reposição volêmica foi realizada por meio de infusão da solução de cloreto de sódio 0,9% na proporção de 3 ml de NaCl 0,9% para cada 1 ml de sangue retirado.

Grupo IV – Gelatina Hemodiluição – (HNA + GEL, n = 7): os animais foram submetidos ao procedimento de hemodiluição normovolêmica aguda e a reposição

¹⁵ Cloreto de sódio 0,9% 500 ml - Baxter

¹⁶ Voluven, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Alemanha

volêmica foi realizada por meio da infusão de solução de gelatina fluida modificada 4%¹⁷ na proporção de 1 ml de gelatina para cada 1 ml de sangue retirado.

O volume de sangue a ser retirado foi calculado por meio da seguinte fórmula estabelecida por Gross (1983):

$$V = VES \times (Hi - Hd) / Hm, \text{ onde:}$$

V = volume de sangue a ser retirado;

VES = volume estimado de sangue (80ml/kg para o suíno adulto);

Hi = hematócrito inicial do paciente;

Hd= hematócrito desejado;

Hm = média entre Hd e Hi.

Por amostragem sanguínea foi determinado o valor do hematócrito inicial, sendo o valor do hematócrito desejado fixado em 15% (em média 50% do valor inicial).

A retirada de sangue foi realizada em 30 minutos. Simultaneamente a retirada do sangue, foi infundido pelas veias femorais dos animais, amido hidroxietílico 6% (HNA + Amido) ou solução de cloreto de sódio 0,9% (HNA + NaCl) ou gelatina (HNA + GEL), todos pré-aquecidos à temperatura de 38°C. Após 15 minutos do início da hemodiluição e no final do procedimento, foi coletado sangue para realização de exame de hematócrito.

O sangue retirado foi acondicionado em bolsa de sangue¹⁸ de PVC estéril contendo 63 ml de anticoagulante CPDA-1 com capacidade de 450 ml. Durante a retirada do sangue, a bolsa permaneceu sobre uma balança digital para assegurar a retirada exata do volume calculado. A bolsa foi mantida em temperatura ambiente por um período de até 4 horas. No momento pré-estabelecido, o sangue previamente

¹⁷ Gelafundin, BBraun, Melsungen, Germany

¹⁸ Bolsa de sangue CPDA-1, DPC MedLab Produtos Médicos e Hospitalares Ltda

coletado foi infundido no animal, completando assim, a técnica de hemodiluição normovolêmica aguda.

Independente do grupo, a fluidoterapia de manutenção foi realizada por meio da administração da solução de cloreto de sódio 0,9% na taxa de 5 ml/Kg.h⁻¹ utilizando bomba de infusão.

Quando a pressão arterial média atingiu valores inferiores a 60 mmHg, procedeu-se a utilização da solução de cloreto de sódio 0,9% na taxa de 10 ml/Kg/hora durante 10 minutos com posterior aumento para 20 ml/Kg/hora por mais 10 minutos, caso não houvesse o restabelecimento da pressão arterial.

4.4 Delineamento Experimental

Os parâmetros hemodinâmicos, bem como as amostras de sangue para a avaliação da resposta inflamatória foram coletados nos seguintes tempos:

Tempo Basal (T_{Basal}): 20 minutos após a aplicação da medicação pré-anestésica; neste momento foi coletado apenas sangue para estudo da inflamação;

Tempo INSTRUMENTAÇÃO (T_{INST}): 30 minutos após o término da instrumentação;

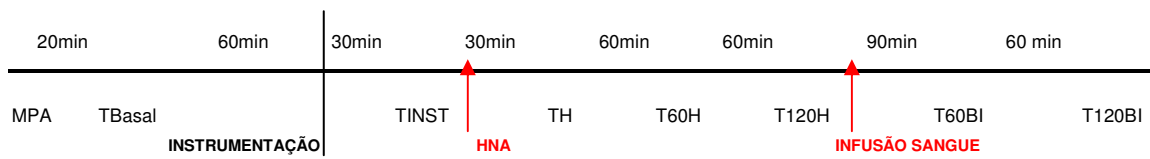
Tempo Hemodiluição (T_H): imediatamente após o término da etapa da hemodiluição ou 30 minutos após T_{INST};

Tempo 60 minutos da Hemodiluição (T_{60H}): 60 minutos após T_H;

Tempo 120 minutos da Hemodiluição (T_{120H}): 120 minutos após o T_H;

Tempo 60 minutos da infusão do sangue (T_{60BI}): 60 minutos após infusão do sangue previamente coletado;

Tempo 120 minutos da infusão do sangue (T_{120BI}): 120 minutos após infusão do sangue previamente coletado.



4.5. Avaliação Paramétrica

Os parâmetros hemodinâmicos, de oxigenação e inflamatórios foram avaliados conforme descrito a seguir:

4.5.1 Parâmetros hemodinâmicos

Frequência e ritmo cardíacos

Durante o decorrer da anestesia a frequência e ritmo cardíacos foram obtidos por meio do monitor cardíaco¹⁹.

Pressão arterial sistêmica

Durante o procedimento de hemodiluição a pressão arterial foi obtida por mensuração direta e contínua com o cateter da artéria femoral acoplado ao transdutor de pressão do monitor, obtendo-se desta forma a pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS) e diastólica (PAD), sendo seus valores expressos em mmHg.

Pressão venosa central (PVC), pressão da artéria pulmonar (PAP), pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP)

Para a obtenção da pressão do átrio direito a via proximal do cateter de Swan-Ganz foi conectada ao transdutor de pressão. A pressão da artéria pulmonar foi obtida ao se conectar a via distal do cateter de Swan-Ganz ao transdutor de pressão. A pressão

¹⁹ Viridia Modelo 885 – Hewlett-Packard, Andover, MA, USA

de oclusão da artéria pulmonar foi mensurada insuflando-se o balão localizado na extremidade distal do cateter de Swan-Ganz. Os valores foram expressos em mmHg.

Os parâmetros referentes aos Índices da Resistência Vascular Sistêmica (IRVS) e Índice da Resistência Vascular Pulmonar (IRVP) foram calculados a partir das fórmulas padrões.

Débito cardíaco (DC) e índice cardíaco (IC)

O DC foi obtido pelo método da termodiluição, por meio do cateter de Swan-Ganz, posicionado na artéria pulmonar e conectado ao monitor de débito cardíaco²⁰. A medida foi realizada injetando-se 10 ml de solução de glicose a 5%²¹ em temperatura de zero a cinco graus Celsius, pela luz proximal do cateter (atrial). Foram realizadas três medidas consecutivas do DC sendo desprezada aquela cujo valor foi discrepante (maior que 10%). O IC foi calculado à partir da fórmula:

$IC = DC/SC$, onde:

IC: Índice Cardíaco (L/min/m²)

DC: Débito Cardíaco (L/min)

SC: Superfície Corpórea (m²)

A Superfície Corpórea foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$SC = K.P^{2/3}$ onde:

K: constante igual a 0,09 para animais acima de 4 Kg

P: peso do suíno (Kg)

4.5.2 Parâmetros de oxigenação

Pressão parcial de oxigênio (PaO₂), pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO₂), saturação de oxigênio (SaO₂), pH do sangue arterial

²⁰ Vigilance, Baxter, Irvine, CA, USA

²¹ Solução de Glicose a 5% - Baxter

Uma amostra de sangue foi obtida pelo cateter posicionado na artéria femoral e utilizada para a mensuração da PaO_2 (mmHg), PaCO_2 (mmHg), SaO_2 (%) e pH, no mesmo analisador de gases sanguíneos e pH empregado para análise das demais variáveis²².

Pressão parcial de oxigênio (PvO_2), pressão parcial de dióxido carbônico (PvCO_2) e saturação de oxigênio no sangue venoso misto (SvO_2)

A coleta de sangue venoso misto para a obtenção dos valores de pH, PvO_2 (mmHg), PvCO_2 (mmHg) e SvO_2 (%) foi realizada vagarosamente a partir da extremidade distal do cateter de Swan-Ganz. As amostras foram coletadas em seringas previamente heparinizadas sendo a agulha vedada com tampa de borracha, evitando assim o contato do sangue com o ar ambiente. O exame da cada amostra foi realizado em analisador de pH e gases sanguíneos²².

Frequência respiratória (FR) e pressão parcial de dióxido de carbono no ar expirado (EtCO_2)

A FR (mpm) e a EtCO_2 (mmHg) foram avaliadas continuamente por meio de um capnógrafo alocado no próprio aparelho de anestesia²³.

4.5.3 Hematócrito, Eletrólitos, Lactato e outros Parâmetros

Hematócrito

Os valores de hematócrito (%) foram obtidos do sangue coletado na artéria femoral e por meio da centrifugação do sangue em centrífuga de microhematócrito²⁴.

Sódio, potássio, bicarbonato plasmático (HCO_3^-) e lactato

A mesma amostra de sangue coletada pelo cateter posicionado na artéria femoral e utilizada para a mensuração dos gases sanguíneos, foi utilizada para mensuração do

²² Gasômetro ABL 555, Radiometer, Copenhagen, Denmark

²³ Cíceró; Dräger, Lübeck, Alemanha

²⁴ Centrífuga de Bancada Microhematócrito Modelo 2410 - Fanem

sódio (mmol/L), potássio (mmol/L), bicarbonato plasmático (mmol/L) e lactato (mmol/L), no mesmo analisador de gases sanguíneos e pH²².

Uréia e Glicose

O soro previamente estocado em freezer -80°C foi utilizado para mensuração da uréia (mg/dl) e glicose (mg/dl) plasmáticas por meio da utilização de um refratômetro²⁵.

Osmolaridade plasmática

A osmolaridade plasmática (mOsm/Kg) foi calculada segundo a fórmula:

$$\text{mOsm/Kg} = 2(\text{Na}+\text{K}) + \text{Glicemia (mg/dl)}/18 + \text{Uréia (mg/dl)}/2,8 \text{ (Barone et al., 2007)}$$

Temperatura

A mensuração deste parâmetro, em graus Celsius, foi obtida por meio do sensor de temperatura do cateter de artéria pulmonar.

Débito Urinário

O débito urinário (ml) foi mensurado por meio de cateterização vesical.

4.5.4 Parâmetros da Inflamação

Coletas para Estudo da Resposta Inflamatória

Coleta de sangue

Em cada momento, foram coletados 5 ml de sangue total dos animais em tubos Vacuntainers²⁶ com gel ativador de coágulo, com objetivo da obtenção de pelo menos 2000 microlitros de soro para as dosagens de citocinas. Foi coletado, também, sangue no volume total de 3 ml em seringa com 0,03 ml de heparina sódica²⁷ para a realização do ensaio de *burst* oxidativo.

²⁵ Atago, CO-LTD, Japão

²⁶ Tubos BD Vacuntainers – BD Brasil

²⁷ Heparin 5000U/ml – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda

Coleta do lavado broncoalveolar

Imediatamente após a eutanásia dos animais, realizada com 10 ml de cloreto de potássio 19,1%, foi coletado lavado broncoalveolar por meio de broncoscópico posicionado no brônquio lobar apical esquerdo. PBS (Phosphate-Buffered Saline, pH 7.2 – 7.4) no volume total de 40 ml foi infundido e retirado lentamente do brônquio. O material coletado foi acondicionado em tubos de polipropileno e alocado em geladeira até posterior centrifugação ou processamento (Kwak *et al.*, 2004).

Coleta de tecido pulmonar

Após a eutanásia dos suínos e coleta do lavado broncoalveolar, por meio de toracotomia, foi coletado tecido pulmonar direito e esquerdo, estes fixados em solução de formol 10%²⁸.

Processamento da amostra

Centrifugação das amostras

As amostras de sangue colhidas em tubo com gel ativador e parte do lavado broncoalveolar foram centrifugados em centrífuga refrigerada a 2000 rpm durante 15 minutos a 4°C. O soro e o sobrenadante obtidos foram aliqüotados em microtubos tipo *eppendorf*²⁹ e, logo em seguida, armazenados em freezer - 80°C para posterior mensuração das citocinas, além da uréia e glicose.

Preparo das Células

Cinquenta microlitros (50 µl) do lavado broncoalveolar foram pipetados juntamente com o azul de Tripán (50 µl) na câmara de Neubauer e levado ao microscópio para contagem celular. O ajuste celular foi realizado para obtenção de 2 X 10⁵ células em 100 µl de amostra.

²⁸ Solução de formaldeído – SP Labor

²⁹ Eppendorf – Eppendorf do Brasil Ltda

Determinação do *burst* oxidativo dos neutrófilos e monócitos circulantes, além de células monocíticas e macrófagos pulmonares

Mensuração do burst oxidativo e da fagocitose

O método proposto por Hasui *et al.* (1989) foi utilizado para determinar o *burst* oxidativo espontâneo gerado pelo DCFH³⁰ (0,3 µM) e estimulado pelo PMA³¹ (1ng/1µl). Resumidamente, foram adicionados nos tubos de polipropileno, para cada tempo:

Tubo A: 100µl de sangue total heparinizado + 1000µl PBS

Tubo B: 100µl de sangue total heparinizado + 200 µl de DCFH-DA (0,3 mM) + 800µl de PBS

Tubo C: 100µl de sangue total heparinizado + 200 µl de DCFH-DA (0,3 mM) + 100µl de PMA (1ng/1µl) + 700µl de PBS

O mesmo esquema de tubos preparados anteriormente foi repetido utilizando-se 100µl de células pulmonares (2×10^5 células/100 µl), sendo:

Tubo A: 100µl de células pulmonares + 1000µl PBS

Tubo B: 100µl de células pulmonares + 200 µl de DCFH-DA (0,3 mM) + 800µl de PBS

Tubo C: 100µl de células pulmonares + 200 µl de DCFH-DA (0,3 mM) + 100µl de PMA (1ng/1µl) + 700µl de PBS

As amostras, tanto as de sangue como as do lavado bronco-alveolar, foram colocadas em incubação em banho-maria a 37°C por 30 minutos. A seguir, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 1200 rpm e 4°C. As células pulmonares foram ressuspensas em PBS e levadas ao citômetro de fluxo. Os eritrócitos foram removidos

³⁰ Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA

³¹ Calbiochem, Gibbstown, NJ, USA

dos botões de leucócitos do sangue periférico por lise hipotônica com uma solução estéril de NaCl 0,2% (2,0 ml) durante 20 segundos. Imediatamente após esta lise foi adicionada uma solução estéril de NaCl 1,6% (2,0 ml) em cada amostra para restaurar a isotonicidade. As amostras foram, então, centrifugadas (1200 rpm por 10 minutos e 4°C) e a lise foi repetida mais de uma vez para a amostra de sangue. Os botões celulares obtidos foram, então, resuspensores adicionando-se aos tubos 300 µl de PBS. Neste momento, as células sanguíneas foram levadas ao citômetro de fluxo para avaliação da magnitude do *burst* oxidativo.

As amostras de sangue e de células pulmonares foram utilizadas para determinar o *burst* oxidativo por meio da citometria de fluxo. Neste sentido, foi utilizado um citômetro de fluxo³² conectado com um computador³³. Foram analisados 10.000 eventos utilizando-se o software Cell Quest. As subpopulações celulares foram reconhecidas por meio das propriedades FSC/SSC das mesmas. Foram coletados os dados de neutrófilos e monócitos sanguíneos e células monocíticas e macrófagos pulmonares excluindo-se as populações de linfócitos e hemáceas por meio da análise dos *gates*. Os resultados de fluorescência foram gravados em uma escala logarítmica. A fluorescência verde do DCFH foi mensurada a 530±30 nm (detector FL1). As análises do *burst* oxidativo foram estimadas pela média geométrica da intensidade média de fluorescência (MGIF)/célula emitida pelo DCFH.

Dosagens das Interleucinas (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, IL-8)

A quantificação de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 (sérico) e IL-8 (lavado broncoalveolar) foram realizadas utilizando Kits comerciais seguindo o protocolo padrão descrito nos mesmos. O procedimento foi efetuado em duplicata.

³² Becton Dickinson Immunocytometry System, San Jose, CA, USA

³³ Macintosh Apple, Cupertino, CA, USA

Os kits de interleucinas foram reconstituídos com anticorpo de captura, anticorpo de detecção e padrão para as dosagens. Todas as citocinas propostas neste estudo foram dosadas e as dificuldades encontradas no decorrer do experimento serão descritas posteriormente.

Metodologia

As citocinas presentes no soro foram dosadas pelo método *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA)³⁴, seguindo todas as recomendações do fabricante e utilizando pares de anticorpos monoclonais comerciais disponíveis. Previamente foram utilizadas placas de 96 poços de fundo chato (Figura 5), recobertas com os anticorpos monoclonais específicos para a captura da citocina a ser dosada. As placas foram incubadas a temperatura ambiente por 18 horas e depois lavadas três vezes com uma solução contendo PBS e Tween 20. Após esta etapa, as placas foram bloqueadas com PBS, contendo 1% ou 0,1% (dependente da citocina em questão) de albumina bovina (BSA) fração V. Após uma hora de incubação, as placas foram lavadas novamente. Às fileiras um e dois de cada placa foram adicionados 100µl de citocina padrão recombinante, seguindo diluições seriadas com PBS, contendo 1% ou 0,1% de BSA, a partir das concentrações iniciais diluídas (Figura 6).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
B	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
C	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
D	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
E	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
F	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
G	Padrão	Padrão	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro
H	Branco	Branco	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro	Soro

Figura 5: Placa de 96 poços para ELISA com os respectivos poços de Padrão, Branco e Amostra. Ensaio realizado em duplicata.

³⁴ DuoSet® ELISA Development System – R&D Systems, Minneapolis, USA

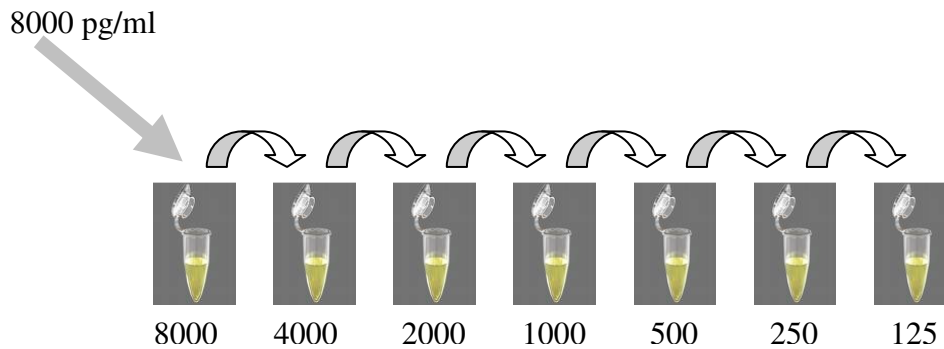


Figura 6: Diluições seriadas da citocina padrão recombinante em PBS + BSA 0,1% referente ao TNF- α

Os poços correspondentes ao branco da reação não receberam padrão diluído ou sobrenadante, apenas a solução contendo PBS e BSA. Às outras fileiras, foram adicionados 100 μ l/poço da amostra. Depois de duas horas e nova lavagem, foram adicionados 100 μ l/poço do anticorpo de detecção marcado com soro de cabra apenas para o TNF- α e IL-10. As placas foram incubadas por duas horas a temperatura ambiente, e depois, lavadas novamente três vezes com a solução de PBS + Tween 20. Em seguida, foram adicionados 100 μ l/poço de estreptoavidina, diluída 1:200 em PBS-BSA 1% ou PBS-BSA 0,1%. As placas foram incubadas por 20 minutos e lavadas três vezes, quando, então, foram adicionados 100 μ l/poço da mistura de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) + tetrametilbenzidina (1:1) (Figura 7). Após 20 minutos, foram adicionados 50 μ l/poço de ácido sulfúrico (2N H_2SO_4) (Figura 8). Os resultados foram determinados pela absorbância obtida em 450 nm, medidas em um leitor automático de ELISA (*BIORAD 2550, EIA Microplate reader, Hercules, CA, USA*). Os resultados obtidos após a leitura foram expressos em densidade óptica (D. O). A concentração de citocina no sobrenadante foi determinada pela comparação com as absorbâncias obtidas, em uma curva padrão da respectiva citocina recombinante, realizada, simultaneamente, e expressa em pg/ml.

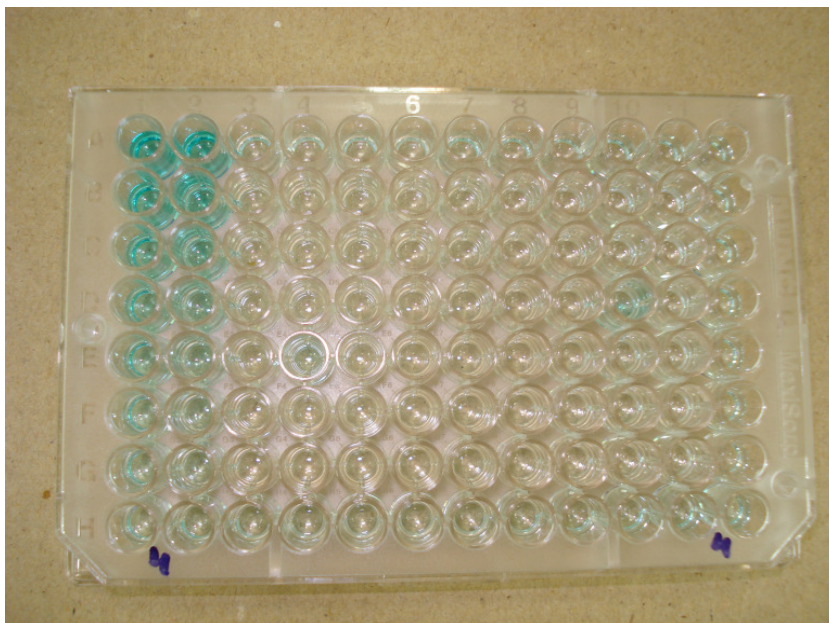


Figura 7: Placa de 96 poços para ELISA com os respectivos poços de Padrão, Branco e Amostra após a adição de Peróxido de Hidrogênio e Tetrametilbenzidina.

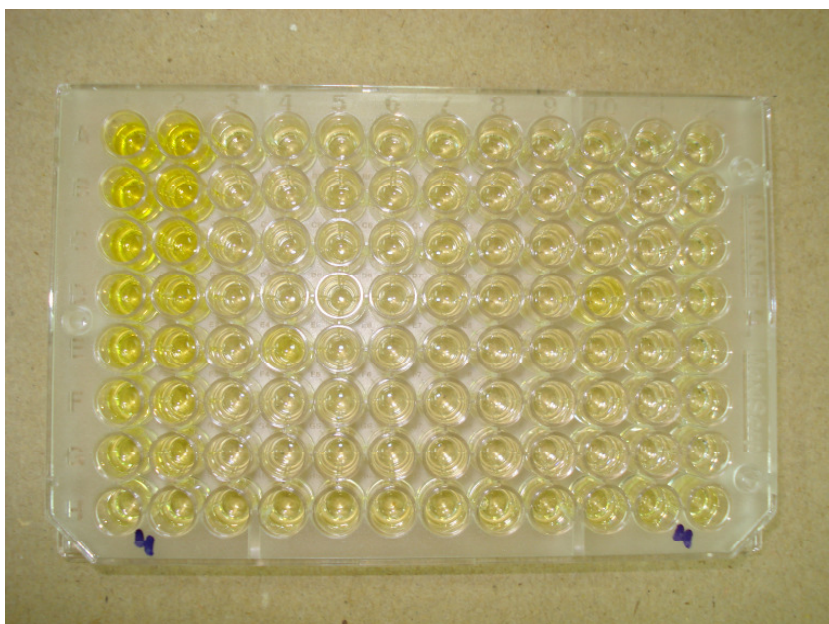


Figura 8: Placa de 96 poços para ELISA com os respectivos poços de Padrão, Branco e Amostra após a adição de Ácido Sulfúrico.

Histopatologia

Imediatamente após a eutanásia realizada por meio da administração de 10 ml de cloreto de potássio³⁵, a cavidade torácica dos animais foi aberta e a região posterior do lobo esquerdo e direito do pulmão foi removido e fixado em solução de formol 10%.

³⁵ Cloreto de potássio 19,1% - Ariston

Foi coletado um total de cinco amostras de pulmão por animal, sendo elas: lobo apical direito e esquerdo; lobo diafragmático direito e esquerdo e lobo acessório. O material foi cortado e corado em hematoxilina e eosina. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2% e PBS (pH 7.3) por 3 horas em temperatura de 4°C. A desidratação foi completada com o uso de etanol e um pesquisador cego para o protocolo experimental avaliou e descreveu as análises de acordo com a congestão alveolar, edema, infiltração e agregação de células mononucleares e polimorfonucleares no pulmão, sendo os escores: 0 = nenhum; 1 = discreto; 2 = moderado; 3 = intenso.

Imunoistoquímica

O tecido pulmonar foi fixado em formol a 10% e foi processado conforme técnicas histológicas. Para a técnica de imunoistoquímica as lâminas previamente fixadas em silano foram desparafinadas em estufa a 60°C por 30 minutos sendo, posteriormente, hidratadas com xilol e álcool. Estas lâminas foram submetidas à inibição da peroxidase endógena tecidual através da incubação das lâminas com solução de metanol e água destilada (1:2) adicionada de 1% de peróxido de hidrogênio, durante 45 minutos em ambiente protegido da luz. Foram realizadas com as lâminas, após esta etapa, 3 lavagens com PBS contendo 1% de albumina sérica bovina (BSA). Foi feito o bloqueio de sítios inespecíficos com soro de cabra diluído 1:100 durante 20 minutos. Em seguida, os excessos de soro de cabra foram removidos com PBS. Foi, então, adicionado à cada lâmina o anticorpo primário anti-COX-2³⁶ na diluição de 1:50 ou anti-E-selectina³⁷ na diluição de 1:100 as quais permaneceram em câmara úmida por 12 horas, em temperatura de 4° C. Após nova lavagem com PBS procedeu-se à incubação

³⁶ Mouse pAb anti-human COX-2, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA

³⁷ Murine pAb anti human E-selectin, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA

com um anticorpo secundário³⁸ durante 40 minutos e ao término incubadas com uma solução de streptoavidina/biotina por 30 minutos em temperatura ambiente. Antes da fase final, fase de revelação, as lâminas foram lavadas duas vezes com PBS. O material permaneceu em ambiente de baixa luminosidade durante a revelação realizada com a diaminobenzidina, em solução a 0,03% acrescida de 0,03% de peróxido de hidrogênio. O tempo de revelação variou de 3 a 5 minutos. Para interromper a reação, as lâminas foram lavadas com água destilada. A contra-coloração foi feita com hematoxilina de Harris diluída a 1:2 em água destilada. Posteriormente, foi feita a lavagem das lâminas em água corrente por 15 minutos. Em seguida o material foi desidratado em solução crescente de álcool xilol e a lâmina foi, finalmente colada com bálsamo do Canadá.

A definição de positividade para os marcadores COX-2 e E-selectina foi determinada pela presença de pelo menos uma célula com coloração citoplasmática acastanhada nítida e inequívoca para cada um destes marcadores. A quantificação definitiva da imunoreação de cada marcador foi determinada pela aplicação do algoritmo EPM (escore total de marcação), por um pesquisador cego para o protocolo experimental, que leva em consideração tanto a intensidade da coloração quanto a percentagem de células coradas na lâmina (Bergqvist *et al.*, 1997). Desta maneira, a intensidade de marcação foi considerada:

0= ausente;

1= marcação discreta;

2= marcação moderada;

3= marcação acentuada.

A extensão de marcação, ou seja, a frequência de células marcadas foi considerada:

³⁸ StreptABC kit, Dako, Glostrup, Denmark

0= ausente;

1= até 10%;

2= 10-50%;

3= 50-75%;

4= 75-100%

O índice de marcação específica expresso como Escore Total de Marcação (ETM) foi obtido considerando a soma dos escores de frequência e de intensidade.

4.6 Descarte dos Animais

Foi efetuado o descarte dos animais no Setor de Coleta de Lixo Infectante da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.7 Análise Estatística

Os valores de peso, diurese, volume de sangue retirado e fluído utilizado para o protocolo de hemodiluição e para manutenção entre os grupos foram analisados estatisticamente por meio one-way ANOVA.

Os resultados hemodinâmicos, de oxigenação e da inflamação, obtidos nos diferentes tempos e grupos foram confrontados estatisticamente por meio de provas paramétricas, empregando-se o método de comparações múltiplas, para análise de variância com medidas repetidas (ANOVA), seguido do teste de Tukey-Kramer quando houve diferença para a comparação dos diferentes tempos de observação de um mesmo grupo e entre grupos. Para confrontar os escores relativos à histopatologia e imunoistoquímica, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. O grau de

significância estabelecido foi de 5% ($p < 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados em programa de computador SigmaStat³⁹.

4.8 Estudo Piloto

Foram utilizados 9 animais em estudos pilotos com o objetivo de padronizar o ensaio de burst oxidativo e calibrar o citômetro de fluxo. O citômetro foi calibrado com o sangue coletado em TBasal (20 minutos após a MPA), pois este ensaio sofre grande influência da variação individual, então, todos animais começaram o experimento com valores aproximados de *burst* oxidativo. No início dos pilotos, testou-se a levedura Zymosan (*Saccharomyces cerevisiae*) como estímulo ao burst oxidativo e obteve-se resultados extremamente variáveis. O burst induzido pela fagocitose da bactéria *Staphylococcus aureus* marcada com iodeto de propídeo⁴⁰ (SAPI) também foi testado sem sucesso, uma vez que a resposta dos suínos durante a fagocitose da bactéria foi extremamente fraca, mesmo depois de aumentar em quatro vezes a dose da bactéria (de 100 μ l para 400 μ l) e enriquecer o meio com PBS glicosado. A pesquisa foi desenvolvida apenas com o reagente 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína – DCFH (o DCFH representa o *burst* oxidativo espontâneo, pois apenas quantifica a quantidade de radical livre produzido por uma célula ativada ou não) e o estímulo acetato miristato de forbol (PMA).

³⁹ SigmaStat 3.1, Systat Software Inc., Richmond, CA, USA

⁴⁰ Iodeto de propídeo - Sigma-Aldrich

RESULTADOS

5. RESULTADOS

Foram estudados 7 suínos do grupo Controle, 7 suínos do grupo Hemodiluição com Amido Hidroxietílico, 7 suínos do grupo Hemodiluição com Solução de Cloreto de Sódio 0,9% e 7 suínos do grupo Hemodiluição com Gelatina. A média de peso dos animais, assim como o volume de sangue retirado e volume de solução infundida, o volume total de fluidoterapia de manutenção e o débito urinário estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Peso, volume de sangue retirado, volume de solução infundida, volume total de fluidoterapia de manutenção e débito urinário dos animais do grupo Controle e grupos hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

Grupo	Peso (Kg)	Sangue Retirado (ml)	Volume Infundido durante HNA (ml)	Volume de Manutenção – NaCl 0,9% (ml)	Débito Urinário (ml)
Controle	30,89 \pm 1,79			944,29 \pm 26,80	350,00 \pm 129,49
HNA + Amido	32,23 \pm 2,61	1538,57 \pm 102,93	1538,57 \pm 102,93###	954,00 \pm 147,4	805,71 \pm 538,76
HNA + NaCl	32,03 \pm 2,35	1657,14 \pm 395,21	4971,43 \pm 1185,63	1036,11 \pm 159,98	1945,71 \pm 1268,37**
HNA + Gel	30,74 \pm 1,96	1628,57 \pm 170,43	1628,57 \pm 170,43###	1058,57 \pm 45,65	514,29 \pm 196,54

HNA: Hemodiluição Normovolêmica Aguda; NaCl: solução de cloreto de sódio 0,9%; ###P<0.001: diferente do grupo HNA + NaCl; **P<0.01: diferente do grupo Controle

5.1 Parâmetros Hemodinâmicos

Os parâmetros hemodinâmicos estão demonstrados nas Tabelas 2 e 3 e nos gráficos a seguir.

Tabela 2: Parâmetros hemodinâmicos dos animais do grupo Controle e grupos submetidos à HNA com diferentes soluções de reposição volêmica (média ± desvio-padrão). São Paulo, 2009.

Parâmetro	Grupos	Momentos					
		TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
FC (bpm)	Controle	115,14±17,20	108,29±19,54	115,57±16,36	115,71±18,33	120,29±20,55	118,86±23,91
	HNA+ Amido	115,71±19,21	141,42±24,71	134,85±23,85	124,28±21,24	132,42±21,57	125,28±19,35
	HNA + NaCl	109,14±20,51	135,00±25,56	139,28±36,82	151,14±53,72a	136,28±33,76	133,57±43,01
	HNA+Gel	128,43±28,50	163,71±28,34***	151,14±25,68	152,86±25,03*	152,71±22,55	142,86±25,87
PAS (mmHg)	Controle	103,29±16,42	107,57±15,11	108,57±14,66	110,43±9,95	111,57±11,41	112,86±12,12
	HNA+ Amido	101,57±15,43	120,71±15,16	102,28±19,27	98,71±14,97	120,71±6,31	114,85±9,42
	HNA + NaCl	107,42±11,29	104,28±12,59	100,71±10,65	105,85±10,00	130,14±10,93a	126,28±13,28
	HNA+ Gel	103,29±18,35	119,57±17,25	103,57±14,56	110,86±18,59	125,14±12,32a	127,71±16,71a
PAD (mmHg)	Controle	63,00±9,40	67,29±8,52	67,14±8,11	71,29±5,31	74,57±12,00	73,43±11,86
	HNA+ Amido	65,14±12,13	78,43±12,01##	66,43±17,63	61,86±13,04	83,71±9,09a	78,86±9,32
	HNA + NaCl	65,43±7,85	60,29±6,75	58,00±5,45	61,86±7,86	85,57±11,43b	81,14±9,51
	HNA+ Gel	64,71±12,00	73,86±11,89	61,14±9,14	66,86±14,93	82,00±7,48a	86,29±9,64b
PAM (mmHg)	Controle	78,86±11,45	83,71±10,40	83,71±9,38	87,00±6,83	89,71±11,19	89,57±11,69
	HNA+ Amido	79,43±13,91	97,71±13,29b#	81,43±18,37	77,57±13,58	99,71±7,30b	93,71±7,41
	HNA + NaCl	81,86±6,54	79,43±7,46	75,86±6,91	79,29±8,12	104,71±9,76b	99,43±8,92b
	HNA+ Gel	80,86±14,14	94,57±14,18	80,29±11,59	86,14±15,70	101,14±8,13b	103,00±10,79b
PVC (mmHg)	Controle	4,29±0,76	4,14±1,35	4,86±1,57	4,71±1,38	4,86±1,77	5,43±1,62
	HNA+ Amido	4,86±1,95	7,14±2,61**	4,43±2,88	4,57±2,07	6,86±2,19	6,57±2,44
	HNA + NaCl	3,71±1,98	5,29±1,80	3,29±1,89	4,57±1,99	7,14±1,07b	6,43±1,40
	HNA+ Gel	5,00±1,53	6,57±1,13	5,14±1,35	5,29±1,38	8,57±1,13b***	8,14±2,27b*
PAP (mmHg)	Controle	14,71±1,50	14,86±1,68	16,00±1,63	16,00±1,63	16,00±2,16	17,43±2,51
	HNA+ Amido	15,86±3,08	20,14±5,01*	13,86±4,95	15,14±3,76	20,29±3,55	19,00±4,12[§]
	HNA + NaCl	14,57±2,94	21,86±7,34b**	15,57±2,99	17,14±2,41	23,43±4,08c**	23,00±4,28c
	HNA+ Gel	16,00±1,83	19,29±2,75	17,00±2,89	17,29±2,50	25,29±2,06c***	27,29±9,55c***
POAP (mmHg)	Controle	6,43±1,27	6,86±1,46	7,14±1,95	6,71±1,11	5,57±1,27	6,86±1,68
	HNA+ Amido	7,43±2,64	10,57±2,23**	7,43±3,31	7,29±1,80	9,29±1,70***	8,86±1,86
	HNA + NaCl	6,57±1,72	8,71±1,80	7,29±1,25	6,71±1,60	10,00±2,38a***	9,14±1,21
	HNA+ Gel	7,86±1,07	9,29±2,56	7,43±2,44	7,57±1,99	12,29±1,89a***	12,43±5,06a***

FC: Frequência Cardíaca; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; PAM: Pressão Arterial Média; PVC: Pressão Venosa Central; PAP: Pressão de Artéria Pulmonar; POAP: Pressão de Oclusão da Artéria Pulmonar; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Frequência cardíaca (FC)

A frequência cardíaca manteve-se estável em todos os grupos estudados, apresentando diferenças estatisticamente significantes nos tempos TH e T120H nos grupos HNA + Gel e HNA + NaCl (Figura 9) (média \pm desvio-padrão).

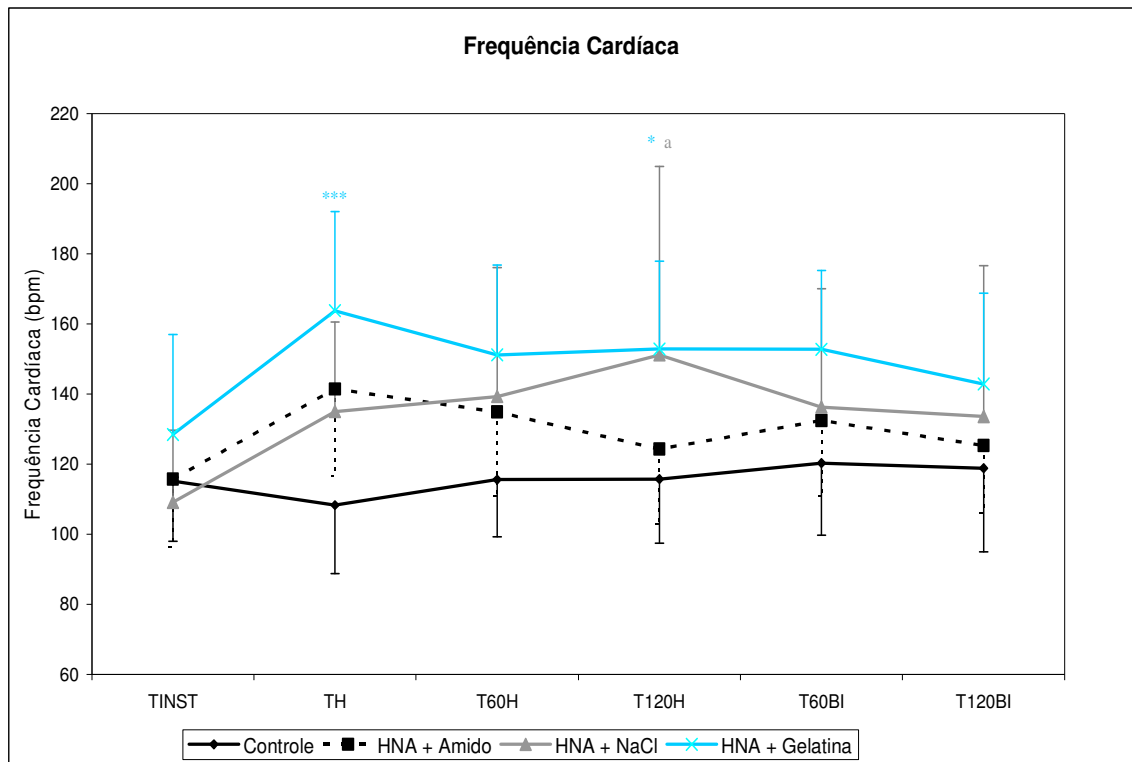


Figura 9: Variação da Frequência Cardíaca (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão arterial sistólica (PAS)

A PAS aumentou após a infusão do sangue previamente coletado (T60BI e T120BI), embora este aumento tenha sido estatisticamente significante apenas nos grupos tratados com solução de NaCl 0,9% e Gelatina (Figura 10).

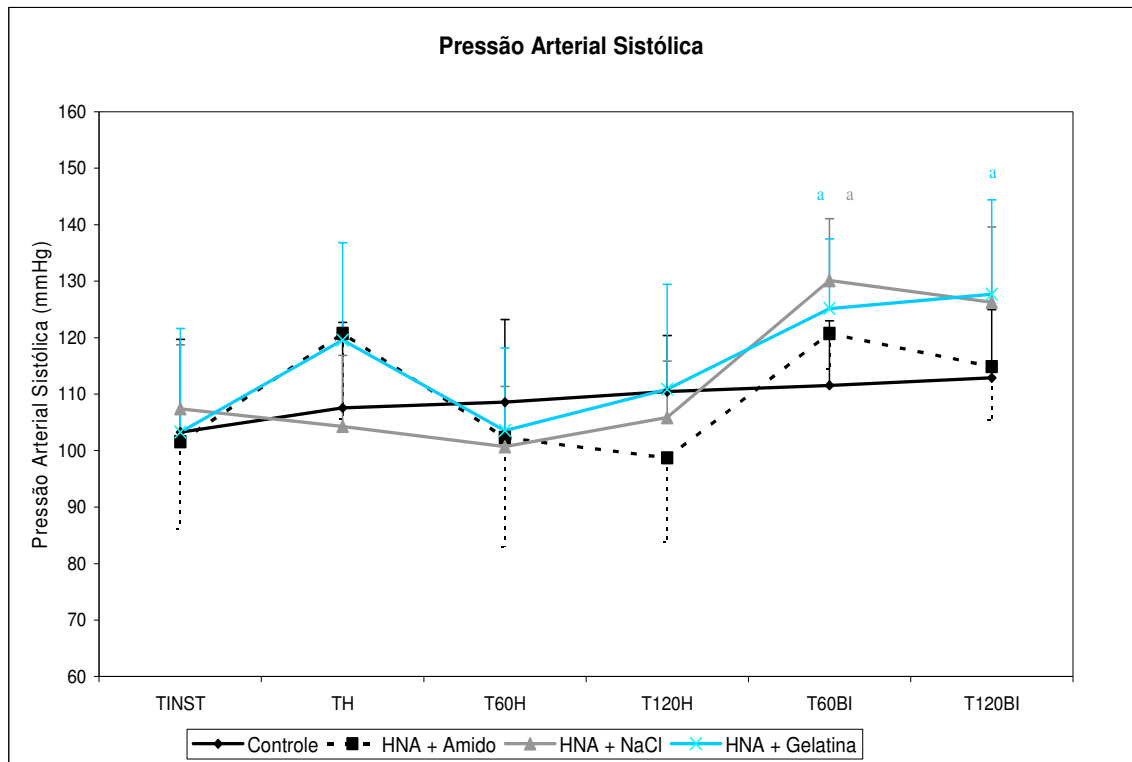


Figura 10: Variação da Pressão Arterial Sistólica (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão arterial diastólica (PAD)

Foram observadas diferenças significativas na PAD após a infusão do sangue previamente coletado (T60BI e T120BI) com relação ao TINST nos grupos HNA + NaCl e HNA + Gel. Apenas o grupo HNA + Amido diferiu significativamente do grupo HNA + NaCl no momento imediatamente após a Hemodiluição (Figura 11).

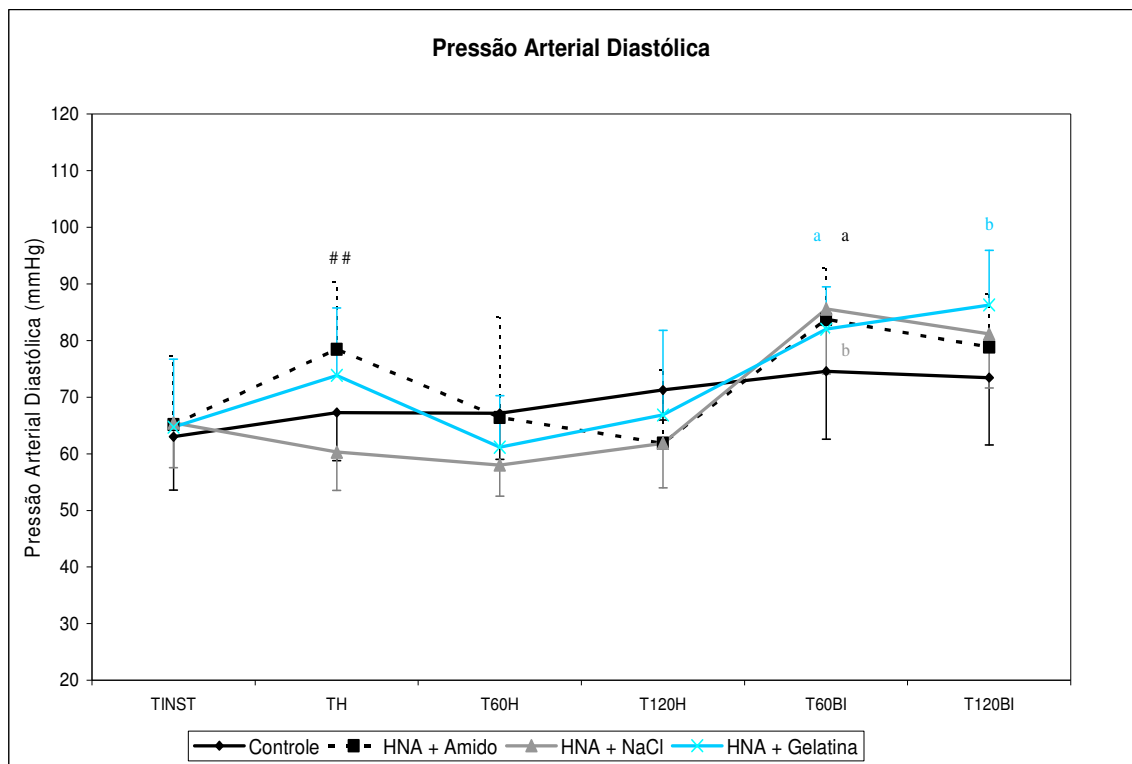


Figura 11: Variação da Pressão Arterial Diastólica (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão arterial média (PAM)

A PAM aumentou no momento TH no grupo HNA + Amido (em relação à TINST e ao grupo HNA + NaCl). Após a reinfusão do sangue coletado (T60BI e T120BI), as pressões sofreram um importante aumento em relação à TINST nos grupos submetidos à hemodiluição (Figura 12).

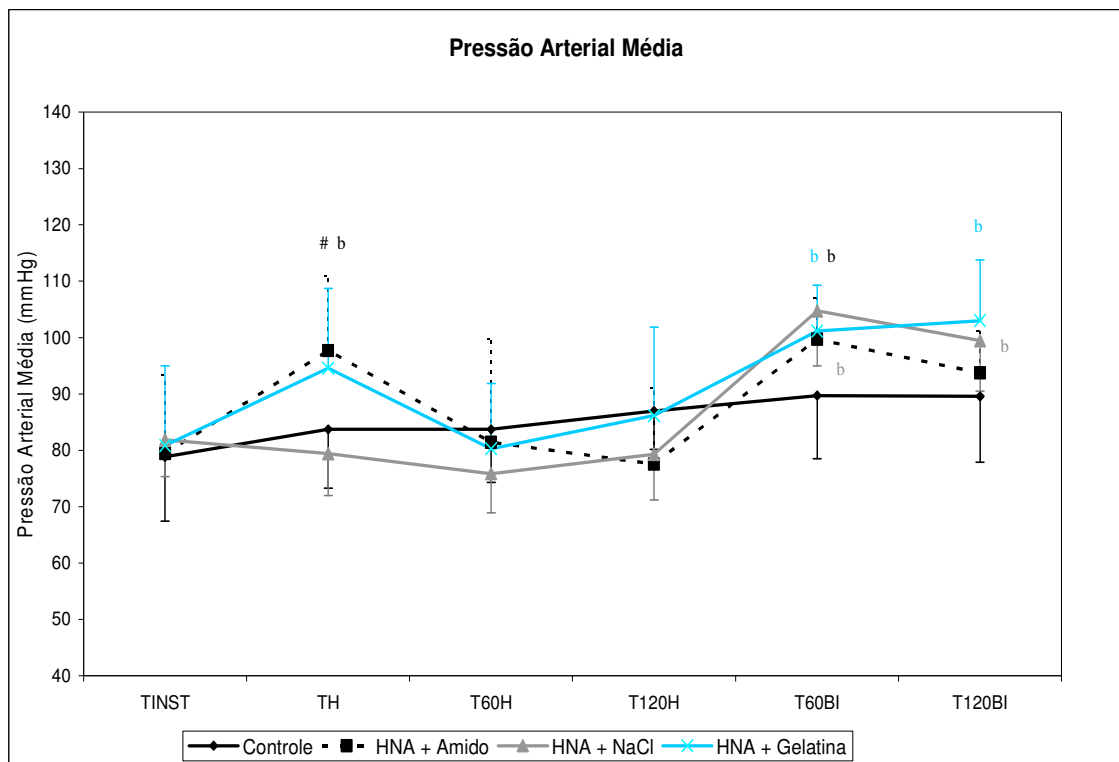


Figura 12: Variação da Pressão Arterial Média (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão venosa central (PVC)

A pressão venosa central aumentou nos três grupos submetidos à hemodiluição logo após o final do procedimento de HNA, embora este aumento tenha sido significativo apenas no grupo HNA + Amido em relação ao controle. Conforme o esperado, a PVC também aumentou após a infusão de sangue (T60BI e T120BI), sendo estatisticamente diferente no grupo HNA + Gel em relação ao Controle e no grupo HNA + NaCl em relação à TINST (Figura 13).

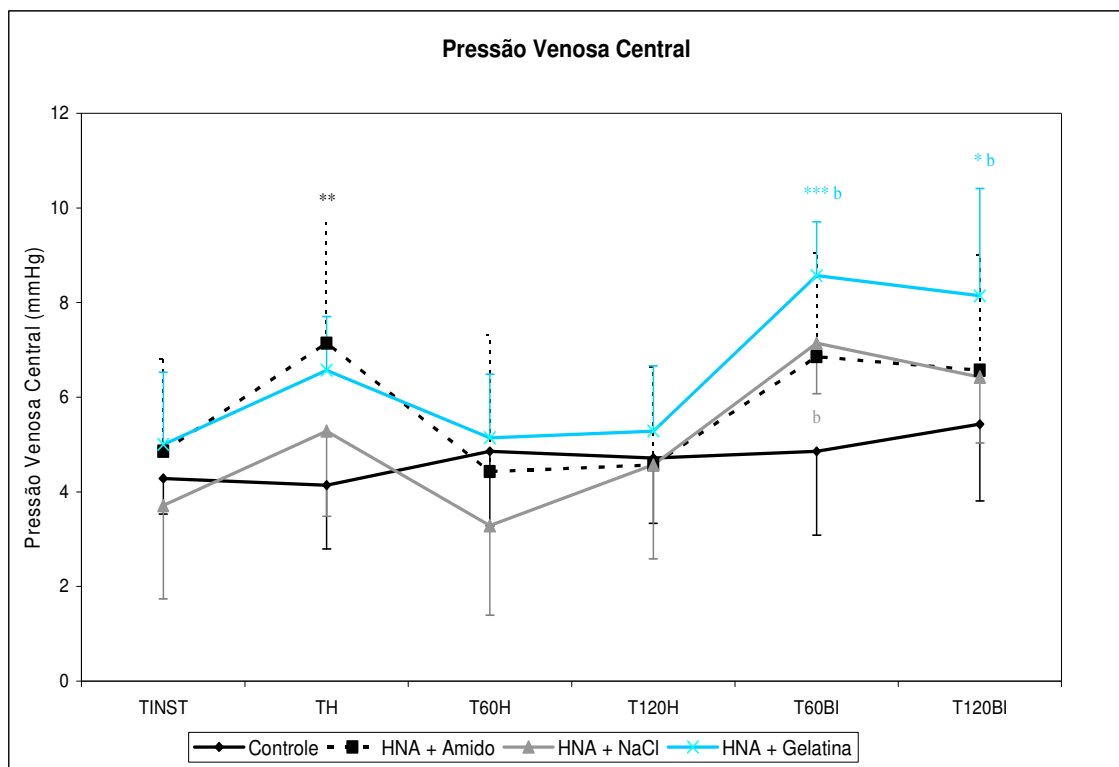


Figura 13: Variação da Pressão Venosa Central (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão da artéria pulmonar (PAP)

Assim como a PVC, a PAP aumentou imediatamente após a hemodiluição no grupo HNA + NaCl e após a infusão do sangue (T60BI e T120BI) nos grupos tratados com NaCl e gelatina (Figura 14).

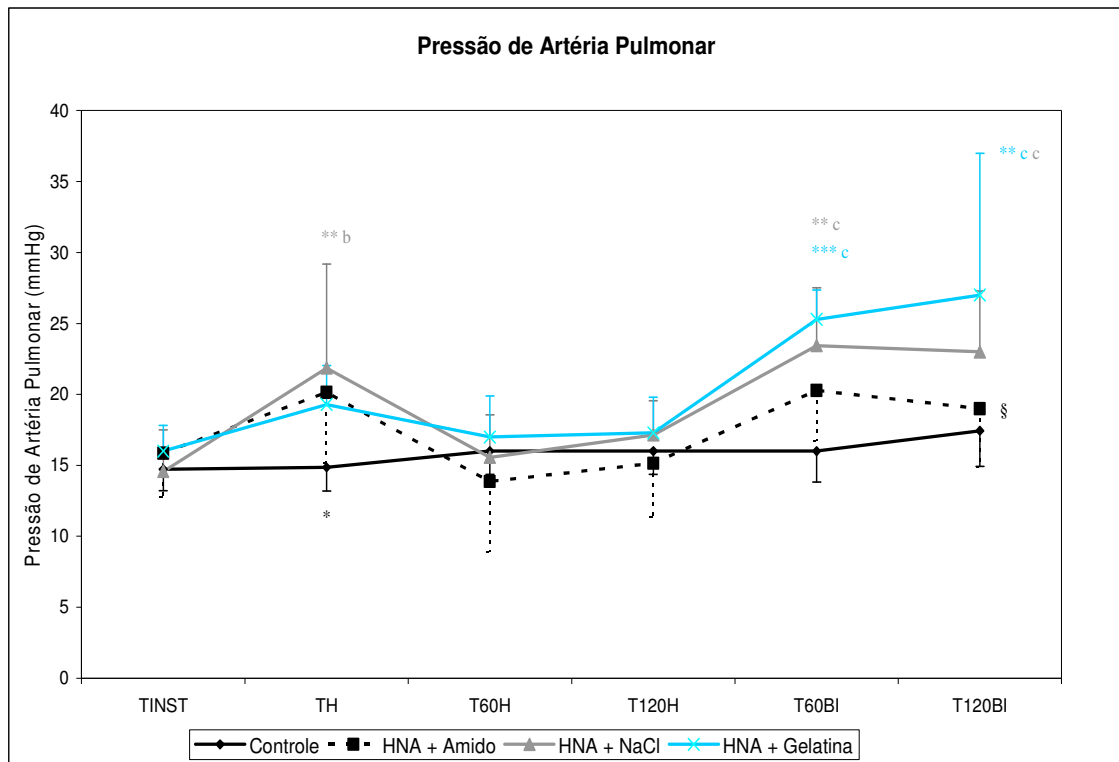


Figura 14: Variação da Pressão de Artéria Pulmonar (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP)

A POAP seguiu o mesmo comportamento da pressão de artéria pulmonar, com valores aumentados em TH (HNA + Amido), T60BI (HNA + NaCl, HNA + Amido e HNA + Gel) e T120BI (HNA + Gel) nos grupos submetidos à hemodiluição (Figura 15).

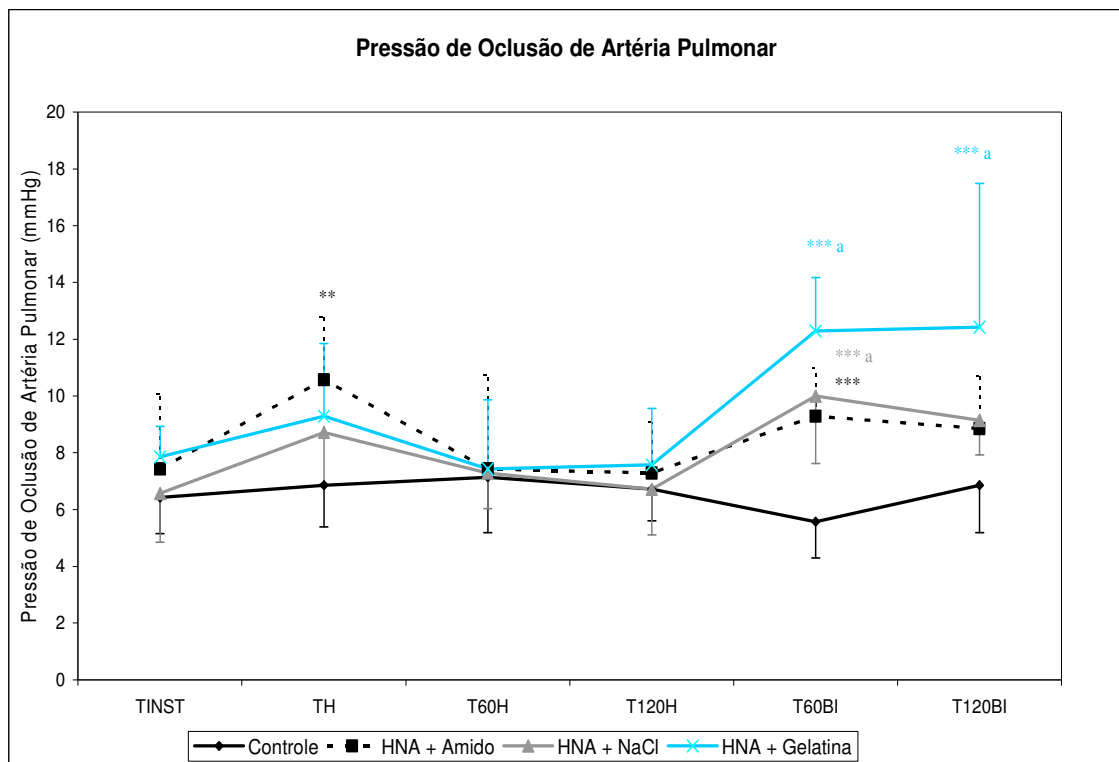


Figura 15: Variação da Pressão de Oclusão da Artéria Pulmonar (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Tabela 3: Valores de Débito Cardíaco (DC), Índice Cardíaco (IC), Índice de Resistência Vascular Sistêmica (IRVS) e Índice de Resistência Vascular Pulmonar dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

Parâmetro	Grupos	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
DC (L.min ⁻¹)	Controle	4,60 \pm 0,69	4,93 \pm 0,93	4,97 \pm 0,85	4,84 \pm 0,69	4,94 \pm 0,88	4,84 \pm 1,12
	HNA+ Amido	3,96 \pm 0,69	6,61\pm0,97c*	5,03 \pm 0,87	4,83 \pm 1,00	6,41 \pm 1,19c	5,49 \pm 0,89
	HNA + NaCl	5,03 \pm 1,43	6,41\pm1,07*	5,19 \pm 1,19	5,06 \pm 0,78	6,74\pm1,57a**	6,50\pm2,10*
	HNA+Gel	5,03 \pm 1,28	6,84\pm1,06a**	6,17 \pm 0,79	5,23 \pm 0,73	7,29\pm0,87c***	6,56\pm1,02*
IC (L.min ⁻¹ .m ²)	Controle	5,19 \pm 0,65	5,57 \pm 0,84	5,63 \pm 0,81	5,47 \pm 0,62	5,59 \pm 0,78	5,49 \pm 1,13
	HNA+ Amido	4,61 \pm 0,38	7,29\pm1,17c*	5,56 \pm 1,13	5,30 \pm 1,14	7,04\pm1,48c	6,04 \pm 1,11
	HNA + NaCl	4,99 \pm 0,91	7,11\pm1,40b	5,80 \pm 1,50	5,61 \pm 1,04	7,50\pm1,90b*	7,24\pm2,45a
	HNA+Gel	5,14 \pm 0,64	7,74\pm1,03c**	7,01\pm0,67a	5,99 \pm 0,95	8,30\pm1,18c***	7,49\pm1,22b**
IRVS (dinas.s.cm ⁻⁵ .m ⁻²)	Controle	1156 \pm 133	1165 \pm 202	1138 \pm 194	1218 \pm 171	1237 \pm 218	1286 \pm 365
	HNA+ Amido	1297 \pm 254	1010 \pm 161	1110 \pm 137	1149 \pm 329	1090 \pm 235	1191 \pm 255
	HNA + NaCl	1292 \pm 273	864\pm201a	1044 \pm 206	1100 \pm 271	1125 \pm 387	1185 \pm 560
	HNA+Gel	1179 \pm 169	915 \pm 133	861 \pm 131	1103 \pm 246	900 \pm 93	1081 \pm 219
IRVP (dinas.s.cm ⁻⁵ .m ⁻²)	Controle	128,29 \pm 17,71	115,14 \pm 9,12	128,43 \pm 36,09	136,71 \pm 25,27	149,86 \pm 24,76	140,57 \pm 43,67
	HNA+ Amido	160,57 \pm 53,04	103,86 \pm 33,31	93,86 \pm 37,80	122,71 \pm 49,59	124,00 \pm 28,21	134,71 \pm 40,14
	HNA + NaCl	117,86 \pm 28,53	150,00 \pm 76,11	118,14 \pm 46,90	150,86 \pm 38,18	152,14 \pm 61,83	167,86 \pm 66,36
	HNA+Gel	119,14 \pm 32,86	101,71 \pm 11,60	110,86 \pm 21,76	134,14 \pm 29,81	124,29 \pm 21,08	183,29 \pm 97,79

DC: Débito Cardíaco; IC: Índice Cardíaco; IRVS: Índice de Resistência Vascular Sistêmica; IRVP: Índice de Resistência Vascular Pulmonar; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Débito Cardíaco (DC)

Com relação ao DC, o mesmo apresentou um aumento significativo nos grupos tratados com NaCl, amido e gelatina imediatamente após a hemodiluição (TH) e após a infusão do sangue (T60BI e T120BI) como mostra a Figura 16.

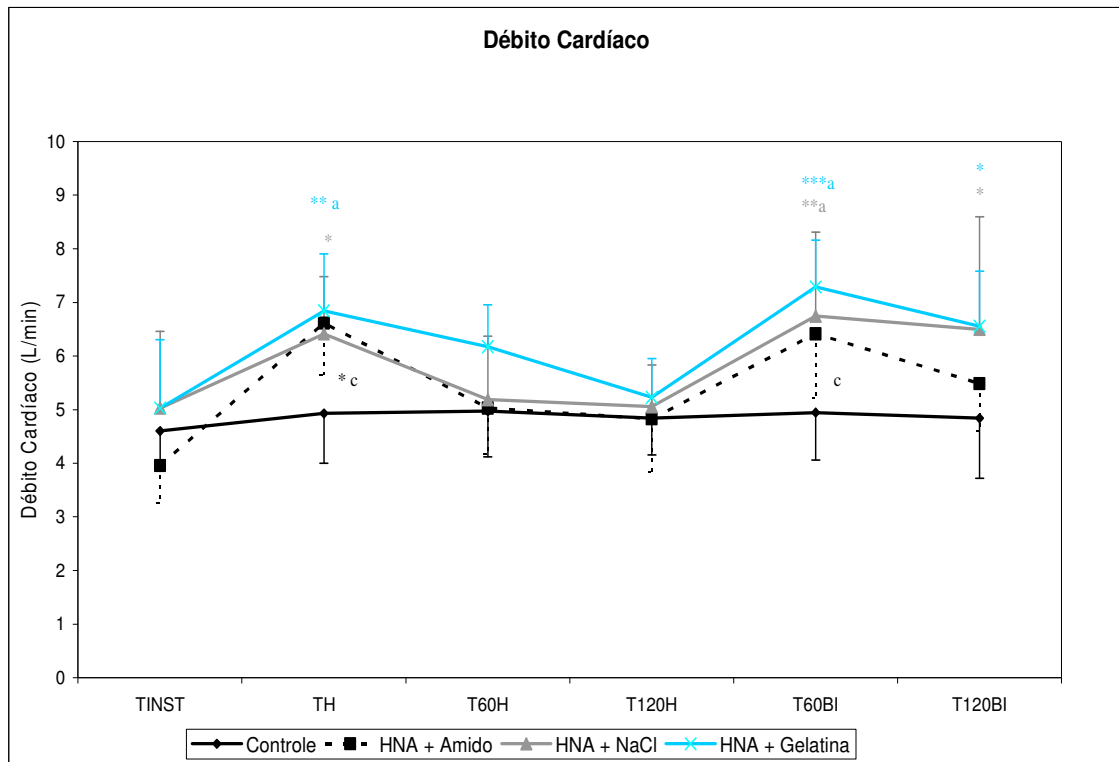


Figura 16: Variação do Débito Cardíaco (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Índice Cardíaco (IC)

No que alude ao índice cardíaco, observou-se um aumento nos grupos submetidos à hemodiluição (TH e T60H) e após a infusão do sangue coletado (T60BI e T120BI) como mostra a Figura 17.

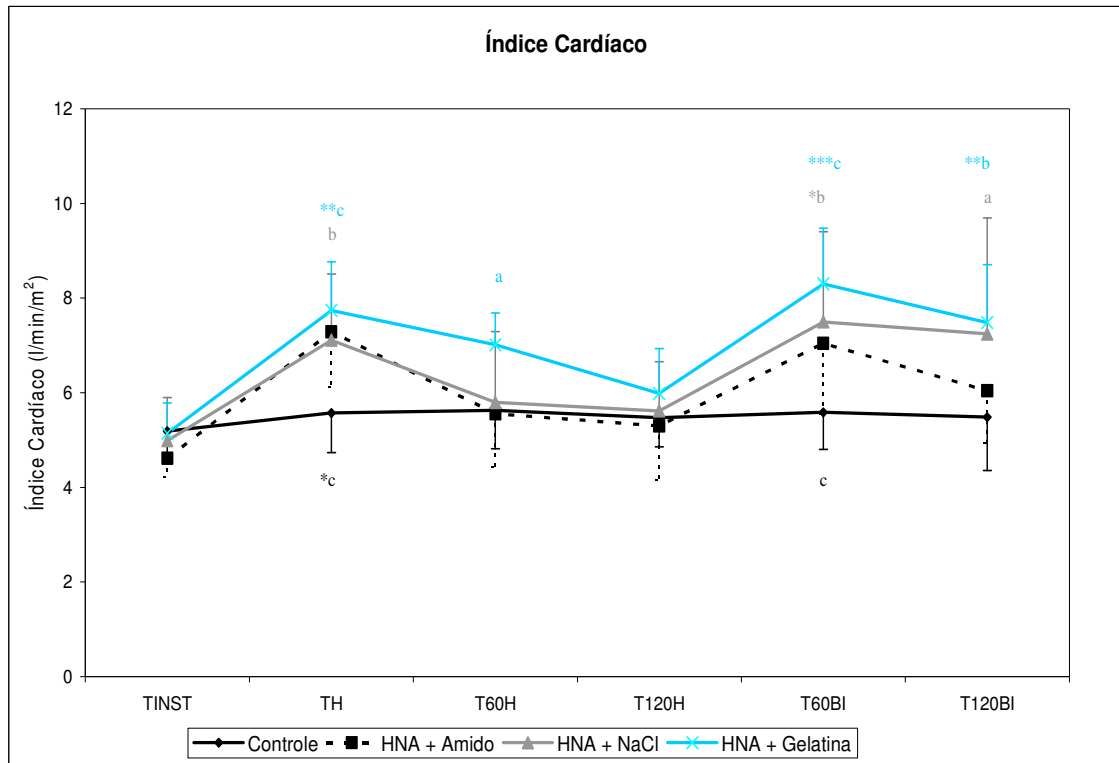


Figura 17: Variação do Índice Cardíaco (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Índice de Resistência Vascular Sistêmica (IRVS)

O IRVS diminuiu significativamente no tempo TH quando confrontado com TINST no grupo HNA + NaCl, como mostra a Figura 18.

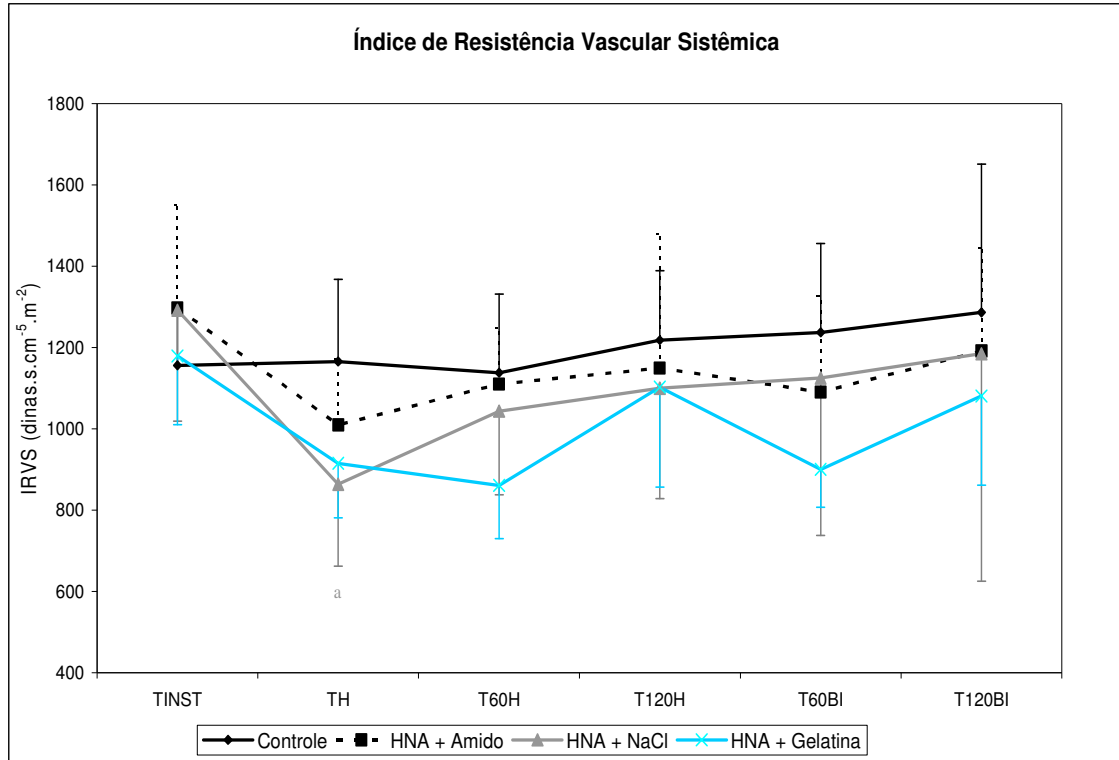


Figura 18: Variação do Índice de Resistência Vascular Sistêmica (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Índice de Resistência Vascular Pulmonar (IRVP)

Apesar deste parâmetro mostrar-se elevado após a hemodiluição no grupo HNA + NaCl, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ou entre os momentos de observação (Figura 19).

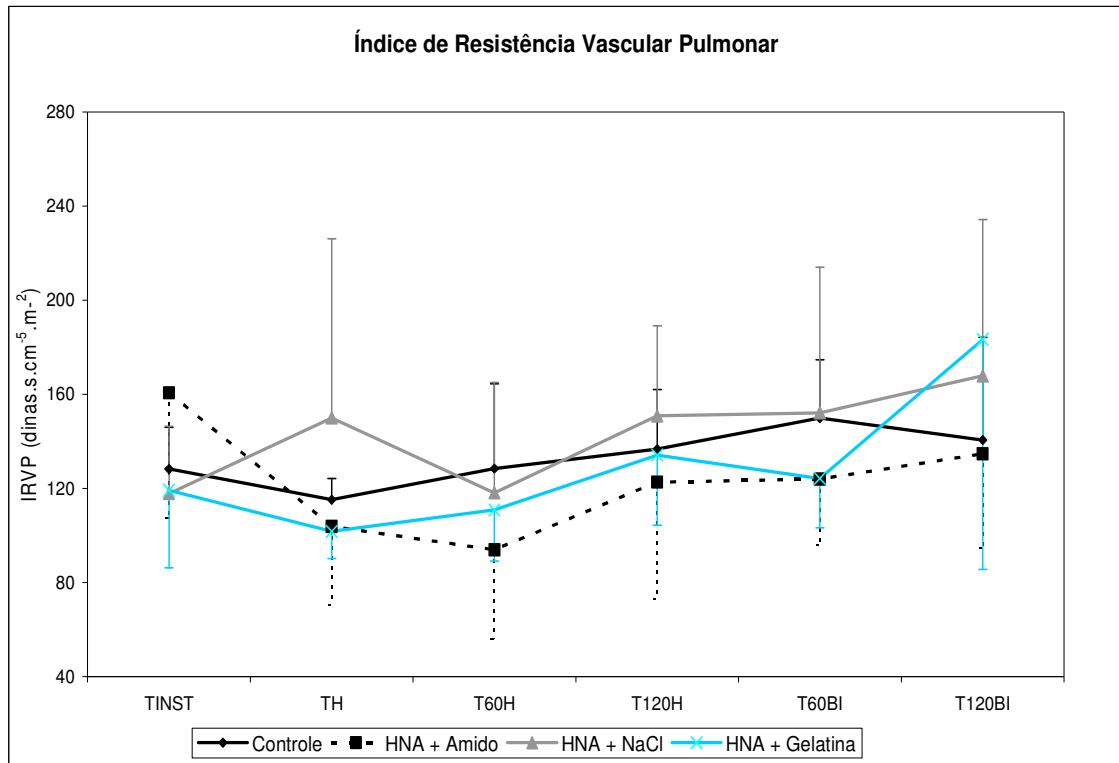


Figura 19: Variação do Índice de Resistência Vascular Pulmonar (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

5.2 Parâmetros de Ventilação, Gases Sanguíneos e Eletrólitos

Os parâmetros citados estão demonstrados nas Tabelas 4, 5 e 6 e nos gráficos à seguir.

Tabela 4: Valores de gases do sangue arterial dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

	Grupos	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
pH arterial	Controle	7,45 \pm 0,05	7,45 \pm 0,05	7,45 \pm 0,03	7,46 \pm 0,03	7,46 \pm 0,03	7,47 \pm 0,03
	HNA+ Amido	7,402 \pm 0,02	7,41\pm0,02###	7,43\pm0,04###	7,43\pm0,03###	7,45\pm0,03###	7,47\pm0,04###
	HNA + NaCl	7,42 \pm 0,04	7,29\pm0,05c***	7,32\pm0,05c***	7,33\pm0,07c***	7,37\pm0,07***	7,38\pm0,05***
	HNA+Gel	7,44 \pm 0,04	7,43\pm0,04###	7,44\pm0,04###	7,44\pm0,02###	7,46\pm0,03###	7,47\pm0,04###
PaO₂ (mmHg)	Controle	181,50 \pm 34,49	185,10 \pm 25,19	187,77 \pm 20,05	182,09 \pm 25,81	181,16 \pm 24,51	183,20 \pm 22,84
	HNA+ Amido	185,11 \pm 30,04	224,27\pm33,45###	198,97 \pm 24,90	204,79 \pm 15,49	172,84\pm33,33[#]	175,20\pm40,32[#]
	HNA + NaCl	188,40 \pm 20,03	151,59 \pm 41,15	172,54 \pm 29,72	172,43 \pm 33,68	127,71\pm32,90b**	132,06\pm44,76b**
	HNA+Gel	194,79 \pm 9,97	206,93\pm18,11##	205,77 \pm 21,36	203,33 \pm 12,97	170,67\pm33,12[#]	166,99 \pm 44,96
PaO₂/ FiO₂	Controle	363,00 \pm 68,98	370,20 \pm 50,38	375,54 \pm 40,10	364,17 \pm 51,62	362,31 \pm 49,02	366,40 \pm 45,68
	HNA+ Amido	370,23 \pm 60,07	448,54\pm66,91###	397,94 \pm 49,81	409,57 \pm 30,97	345,69\pm66,66[#]	350,40\pm80,64[#]
	HNA + NaCl	376,80 \pm 40,07	303,17 \pm 82,30	345,09 \pm 59,45	344,86 \pm 67,37	255,43\pm65,80b**	264,11\pm89,52b**
	HNA+Gel	389,57 \pm 19,94	413,86\pm36,22##	411,54 \pm 42,71	406,66 \pm 25,94	341,34\pm66,24[#]	333,97 \pm 89,92
PaCO₂ (mmHg)	Controle	40,23 \pm 3,47	41,23 \pm 3,76	40,56 \pm 2,80	40,27 \pm 4,46	39,89 \pm 3,38	39,93 \pm 3,07
	HNA+ Amido	42,77 \pm 2,87	40,97 \pm 2,85	40,13 \pm 3,82	40,44 \pm 3,78	41,09 \pm 2,81	40,23 \pm 4,69
	HNA + NaCl	41,59 \pm 2,85	42,34 \pm 2,99	39,43 \pm 3,24	40,20 \pm 5,25	40,37 \pm 4,37	42,89 \pm 2,94
	HNA+Gel	40,14 \pm 4,64	38,84 \pm 3,89	38,81 \pm 3,60	40,70 \pm 3,57	41,26 \pm 3,30	39,84 \pm 4,53
SaO₂ (%)	Controle	98,71 \pm 1,70	98,43 \pm 2,07	98,43 \pm 2,15	98,14 \pm 2,27	98,29 \pm 2,14	98,00 \pm 2,24
	HNA+ Amido	98,57 \pm 1,81	99,43 \pm 0,79	99,00 \pm 1,53	99,29 \pm 1,89	97,86 \pm 2,48	98,86 \pm 1,46
	HNA + NaCl	98,29 \pm 1,70	98,57 \pm 1,81	97,29 \pm 2,14	98,29 \pm 2,21	96,43 \pm 1,90	97,00 \pm 2,08
	HNA+Gel	97,29 \pm 2,06	97,00 \pm 1,53	98,14 \pm 1,95	97,14 \pm 2,34	95,71 \pm 1,25	96,14 \pm 1,46

PaO₂: Pressão parcial de oxigênio no sangue arterial; PaO₂/ FiO₂: relação PaO₂/ FiO₂; PaCO₂: Pressão parcial de gás carbônico no sangue arterial; SaO₂: Saturação de oxigênio no sangue arterial; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Tabela 5: Valores de gases do sangue venoso misto e parâmetros de ventilação dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

	Grupos	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
pH venoso misto	Controle	7,41 \pm 0,05	7,41 \pm 0,05	7,40 \pm 0,05	7,40 \pm 0,08	7,39 \pm 0,11	7,40 \pm 0,09
	HNA+ Amido	7,34 \pm 0,04	7,33\pm0,05#	7,35 \pm 0,04	7,35\pm0,04#	7,41 \pm 0,03	7,42 \pm 0,04
	HNA + NaCl	7,37 \pm 0,05	7,25\pm0,04c***	7,28\pm0,04****	7,27\pm0,05****	7,34 \pm 0,07	7,35 \pm 0,05
	HNA+Gel	7,40 \pm 0,05	7,38\pm0,05###	7,39\pm0,05###	7,38\pm0,03##	7,43\pm0,04#	7,43\pm0,04#
PvO₂ (mmHg)	Controle	48,37 \pm 5,17	50,63 \pm 3,67	51,86 \pm 2,70	50,87 \pm 2,94	51,41 \pm 4,31	51,09 \pm 4,03
	HNA+ Amido	48,33 \pm 4,87	47,26 \pm 5,57	43,49\pm5,34*	42,16\pm5,61**	52,84 \pm 4,41	50,06 \pm 5,97
	HNA + NaCl	50,11 \pm 5,51	49,70 \pm 4,43	46,60 \pm 5,41	46,60 \pm 6,65	54,36 \pm 5,30	54,43 \pm 8,58
	HNA+Gel	51,60 \pm 5,96	45,39 \pm 6,13	43,20\pm5,37a**	43,73\pm3,20*	53,37 \pm 5,20	49,19 \pm 4,52
PvCO₂ (mmHg)	Controle	46,40 \pm 4,70	47,17 \pm 5,89	46,40 \pm 4,12	46,53 \pm 4,42	45,64 \pm 3,76	45,74 \pm 2,44
	HNA+ Amido	53,11 \pm 3,51	49,81 \pm 3,53	49,43 \pm 3,24	50,26 \pm 4,28	46,29 \pm 3,26	46,04 \pm 4,58
	HNA + NaCl	50,07 \pm 5,19	48,50 \pm 2,44	47,60 \pm 3,95	50,63 \pm 7,62	47,00 \pm 7,18	49,17 \pm 4,50
	HNA+Gel	47,80 \pm 6,27	44,46 \pm 4,30	46,54 \pm 5,33	48,93 \pm 4,99	46,63 \pm 5,62	45,79 \pm 4,76
SvO₂ %	Controle	81,79 \pm 4,62	83,29 \pm 3,91	83,79 \pm 3,38	82,37 \pm 3,52	81,97 \pm 5,53	81,91 \pm 4,76
	HNA+ Amido	78,51 \pm 2,78	78,34 \pm 2,96	75,94\pm4,77***	73,71\pm2,65***	85,60\pm1,32a	83,97 \pm 0,84
	HNA + NaCl	80,51 \pm 6,25	77,53\pm3,60*	74,34\pm4,18a***	72,53\pm3,65b***	83,16 \pm 3,84	82,19 \pm 5,45
	HNA+Gel	83,27 \pm 2,51	77,89 \pm 5,35	72,24\pm4,13c***	72,01\pm5,59c***	84,66 \pm 2,96	81,53 \pm 2,39
FR (mpm)	Controle	17 \pm 2	17 \pm 3	17 \pm 3	17 \pm 2	18 \pm 3	17 \pm 2
	HNA+ Amido	18 \pm 2	18 \pm 2	18 \pm 2	18 \pm 2	18 \pm 2	18 \pm 2
	HNA + NaCl	17 \pm 3	17 \pm 4	17 \pm 4	17 \pm 3	18 \pm 4	19 \pm 4
	HNA+Gel	19 \pm 2	19 \pm 2	19 \pm 2	19 \pm 2	19 \pm 2	19 \pm 2
EtCO₂ (mmHg)	Controle	39,9 \pm 3,7	40,3 \pm 3,3	39,7 \pm 2,9	38,9 \pm 3,0	38,7 \pm 2,9	38,3 \pm 2,0
	HNA+ Amido	41,0 \pm 2,9	39,1 \pm 3,5	37,3 \pm 3,1	37,0 \pm 3,1	38,9 \pm 2,7	37,1 \pm 3,3
	HNA + NaCl	42,0 \pm 3,1	35,7\pm2,1b	37,1 \pm 2,9	38,0 \pm 4,1	38,6 \pm 3,5	39,9 \pm 5,4
	HNA+Gel	40,6 \pm 4,4	37,3 \pm 3,6	36,9 \pm 3,0	41,0 \pm 3,6	39,6 \pm 3,4	38,6 \pm 3,3

PvO₂: Pressão parcial de oxigênio no sangue venoso misto; PvCO₂: Pressão parcial de gás carbônico no sangue venoso misto; SvO₂: Saturação do oxigênio no sangue venoso misto; EtCO₂: pressão parcial de dióxido de carbono no ar expirado; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

pH do sangue arterial

Os dados de pH obtidos no grupo HNA + Amido e HNA + Gelatina permaneceram dentro dos níveis normais durante o experimento, sem alterações importantes após o procedimento de hemodiluição. Com relação ao grupo HNA + NaCl, observou-se diminuição significativa do pH em todos os momentos após a hemodiluição, com valores diminuídos com relação a todos os grupos estudados perdurando até o final do experimento (Figura 20).

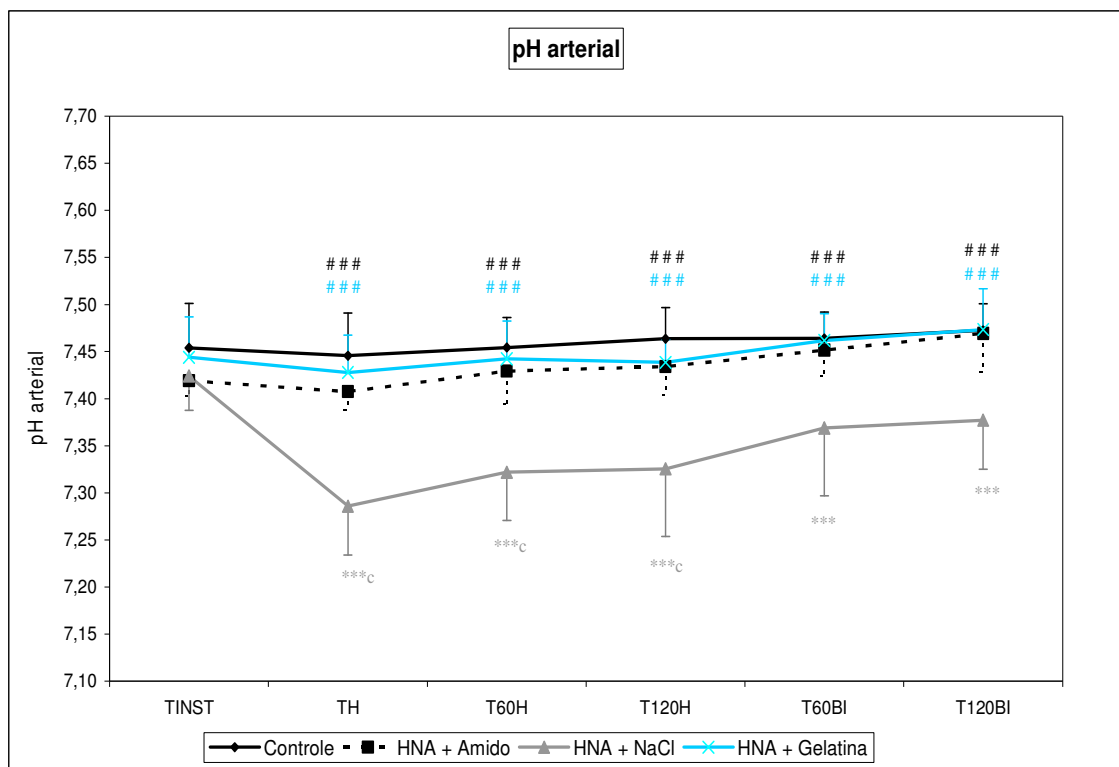


Figura 20: Variação do pH do sangue arterial (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão parcial de dióxido de carbono ($PaCO_2$) no sangue arterial

A $PaCO_2$ permaneceu estável em todos os momentos nos grupo estudados, não apresentando diferenças significativas entre os momentos e entre os grupos estudados (Figura 21).

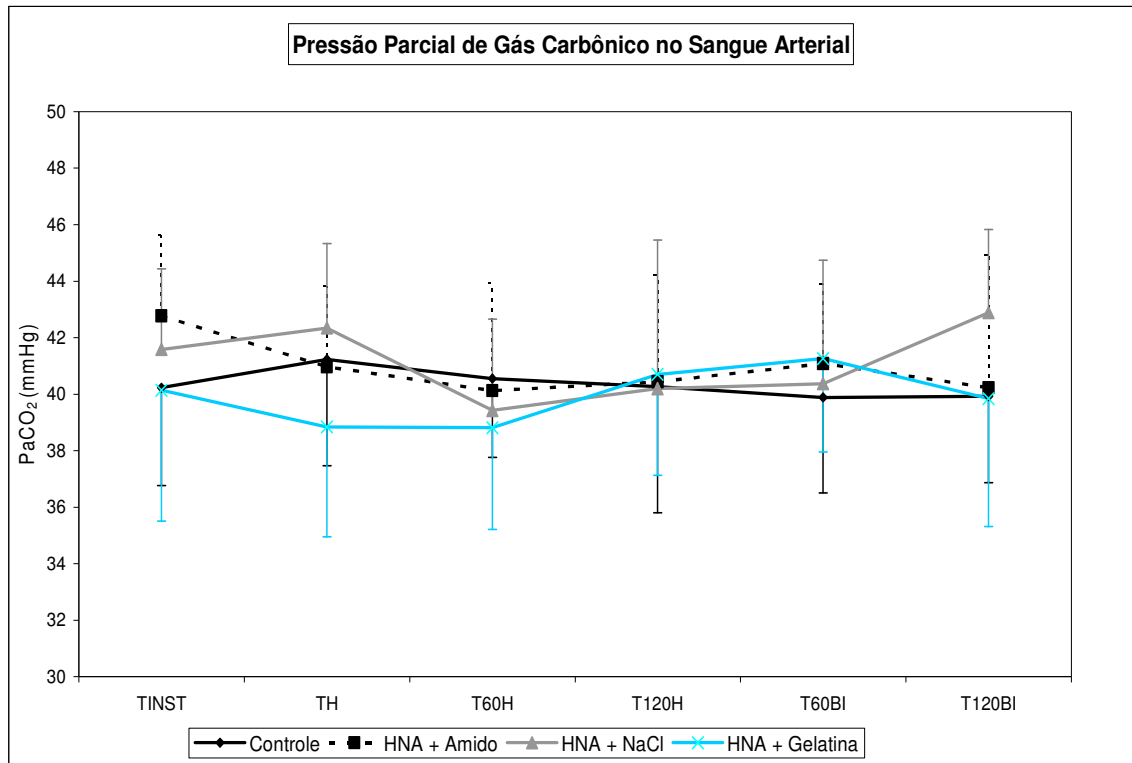


Figura 21: Variação Pressão Parcial de Gás Carbônico no sangue arterial (média e desvio-padrão) em suínos submetidos ou não ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Pressão parcial de oxigênio (PaO_2) no sangue arterial

No que alude a PaO_2 , o grupo HNA + NaCl apresentou valores significativamente mais baixos quando confrontados com os outros grupos tratados imediatamente após a hemodiluição e após a infusão do sangue (Figura 22).

Quando a relação PaO_2/FiO_2 foi estudada, observaram-se as mesmas diferenças significativas demonstradas na PaO_2 , conforme esperado (Tabela 4).

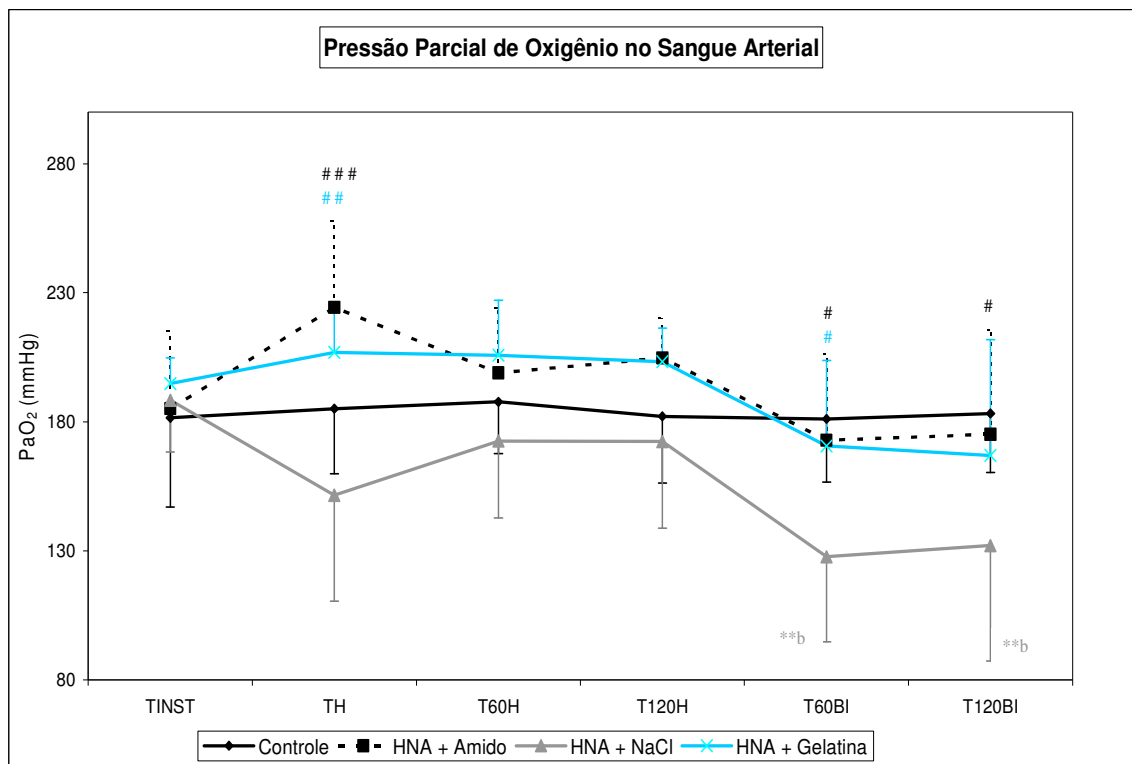


Figura 22: Variação Pressão Parcial de Oxigênio no sangue arterial (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Saturação de oxigênio no sangue arterial (SaO_2)

Com relação a este parâmetro não houve diferença significativa entre os momentos ou grupos estudados (Figura 23).

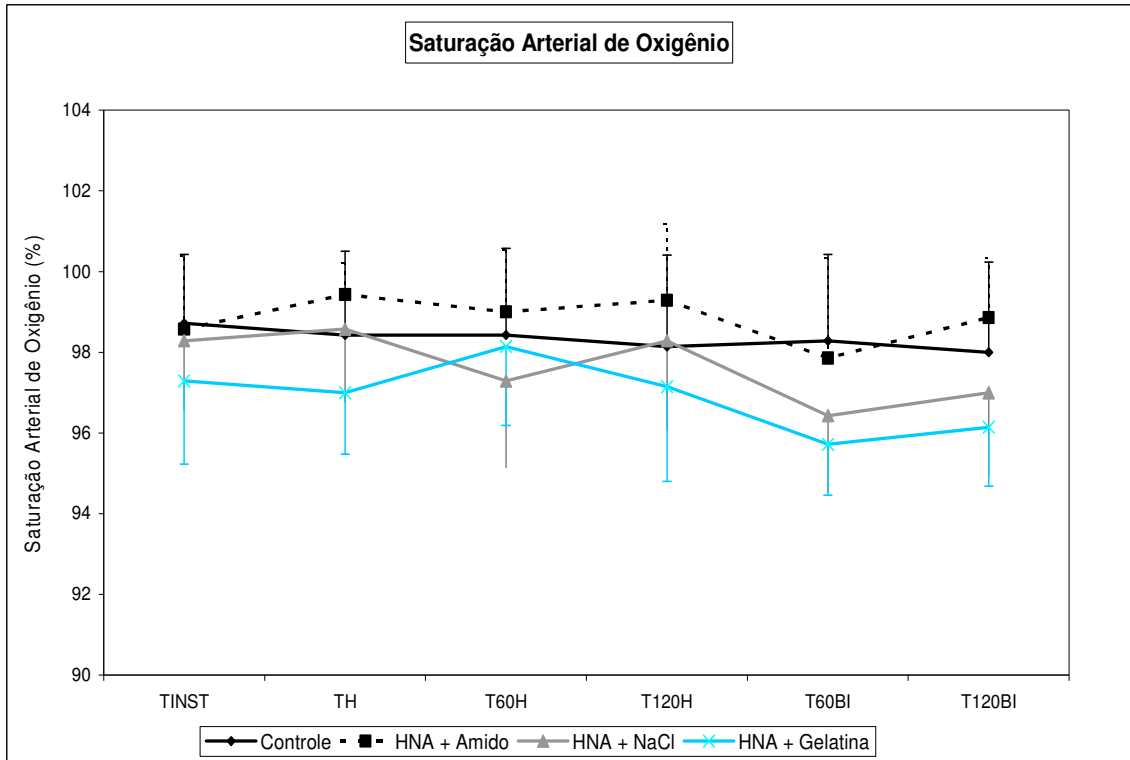


Figura 23: Variação da Saturação de Oxigênio no sangue arterial (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

pH do sangue venoso misto

O pH do sangue venoso-misto diminuiu significativamente após a hemodiluição apenas no grupo HNA + NaCl com relação aos outros grupos estudados (Figura 24).

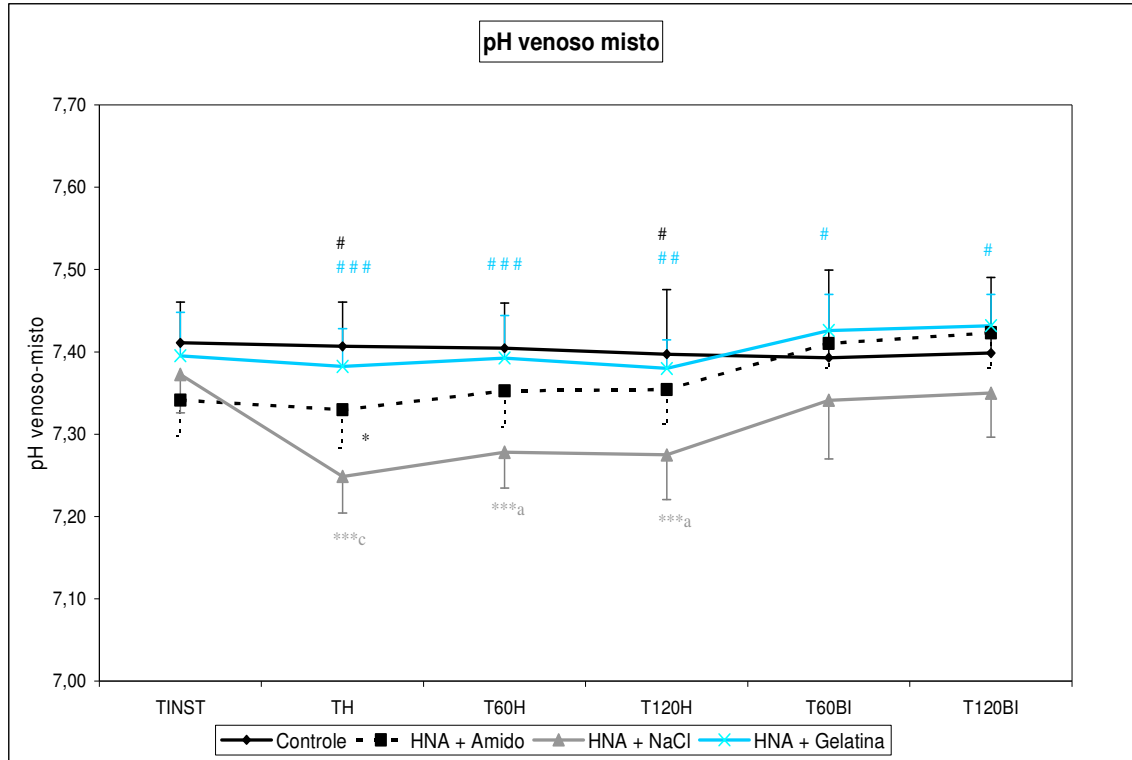


Figura 24: Variação do pH do sangue venoso misto (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Pressão parcial de dióxido de carbono ($PvCO_2$) no sangue venoso misto

No que alude a $PvCO_2$, não foram observadas diferenças significativas entre os momentos ou grupos estudados (Figura 25).

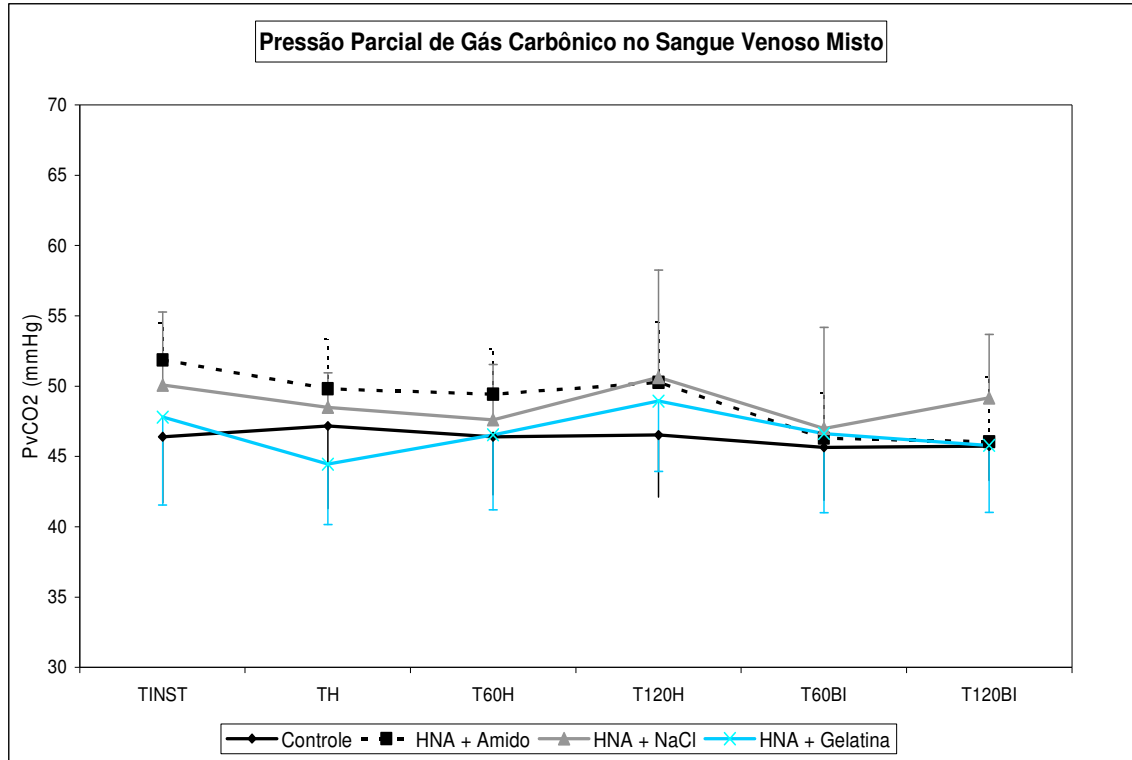


Figura 25: Variação da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono no sangue venoso misto (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Pressão parcial de oxigênio (PvO₂)

O grupo HNA + GEL e o HNA + Amido apresentaram valores significativamente menores que o grupo Controle nos momentos T60H e T120H em relação a PvO₂ (Figura 26).

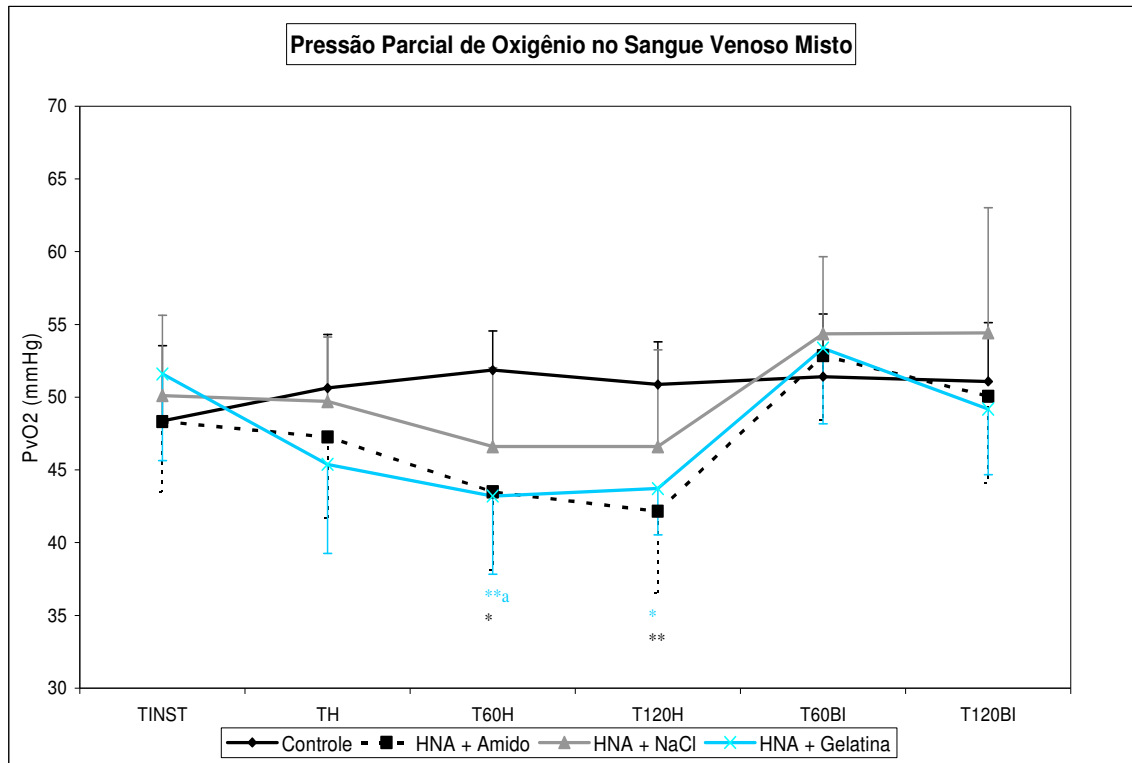


Figura 26: Variação da Pressão Parcial de Oxigênio no sangue venoso misto (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Saturação de oxigênio no sangue venoso misto (SvO₂)

Com relação a SvO₂, o comportamento dos 3 grupos submetidos a hemodiluição foi semelhante, com queda gradativa até T120H. No entanto, imediatamente após a hemodiluição, apenas o grupo HNA + NaCl apresentou diferença significativa em relação ao Controle. Nos momentos T60H e T120H, os grupos HNA + Amido, HNA + NaCl e HNA + Gel diferiram significativamente do grupo Controle. Após a infusão do sangue, a SvO₂ retornou próximo aos valores basais (Figura 27).

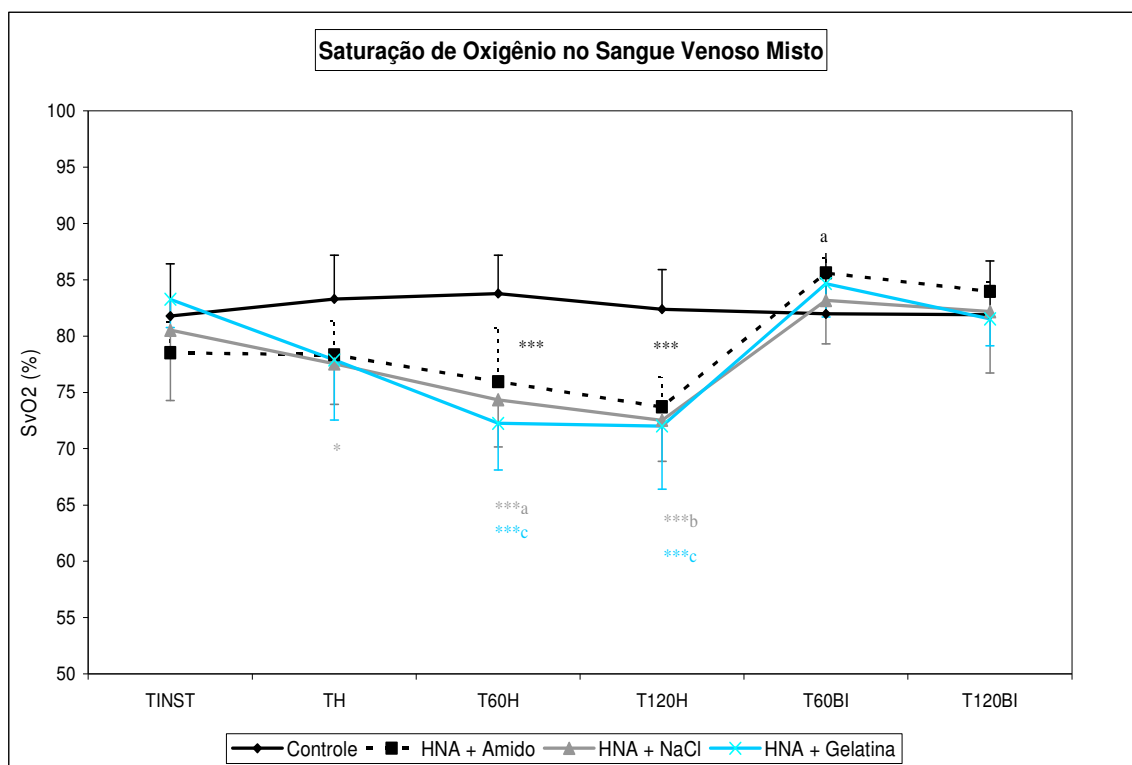


Figura 27: Variação da Saturação de Oxigênio no sangue venoso misto (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Tabela 6: Valores de hematócrito, eletrólitos e lactato dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média ± desvio-padrão). São Paulo, 2009.

	Grupos	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Ht %	Controle	28,71±2,98	29,14±2,34	29,00±3,65	29,29±2,81	28,86±2,97	28,71±2,75
	HNA + Amido	29,86±1,57	14,14±0,69c***	15,00±1,73c***###	16,29±2,06c***#	25,14±1,86a*	25,57±1,62a
	HNA + NaCl	29,71±3,09	15,29±1,11c***	18,43±2,88c***	18,86±2,48c***	26,00±2,45	27,43±2,76
	HNA + Gel	30,14±1,95	14,57±0,53c***	15,43±0,98c***###	15,86±0,90c***###	25,43±3,36b	26,00±2,58a
HCO³⁻ (mmol/L)	Controle	27,49±1,36	27,51±1,36	27,63±1,26	26,30±5,11	25,70±5,70	26,94±4,29
	HNA + Amido	25,76±2,75	24,17±1,67##	24,87±1,24##	25,51±1,54##	27,29±1,57#	27,70±1,21
	HNA + NaCl	26,40±2,07	19,51±2,04c***	20,30±2,37c***	21,17±2,95c***	23,29±3,52	24,54±1,68
	HNA + Gel	26,70±1,50	25,04±0,96###	25,86±1,16###	26,73±1,44###	28,51±0,64###	28,30±0,69#
Na⁺ (mmol/L)	Controle	139,00±2,00	138,29±1,89	138,14±2,04	136,57±1,90	138,57±2,23	136,57±1,99
	HNA + Amido	139,14±2,54	137,71±1,80##	139,14±1,95	138,29±3,04	140,71±1,38	140,43±3,05**
	HNA + NaCl	138,71±2,21	141,71±3,09*	139,71±3,04	139,57±3,05	140,57±3,36	140,57±2,64**
	HNA + Gel	138,43±1,62	139,57±1,51	138,43±0,98	137,86±1,46	139,14±1,57	139,43±1,62
K⁺ (mmol/L)	Controle	3,80±0,22	3,80±0,33	3,83±0,36	3,97±0,52	4,19±0,47	4,16±0,31
	HNA + Amido	3,96±0,33	3,67±0,16#	3,94±0,16	4,06±0,17	3,89±0,22	4,04±0,10
	HNA + NaCl	3,67±0,25	3,24±0,29a***	3,79±0,33	4,04±0,25	3,87±0,43	3,81±0,42
	HNA + Gel	3,83±0,21	3,53±0,26	3,90±0,24	4,13±0,39	3,79±0,22	3,73±0,14
Lactato arterial (mmol/L)	Controle	149±0,40	1,41±0,42	1,56±0,73	1,24±0,26	1,10±0,34	0,91±0,28
	HNA + Amido	1,56±0,51	1,34±0,55	1,30±0,39	1,23±0,42	0,99±0,20	0,76±0,08a
	HNA + NaCl	1,50±0,38	1,10±0,63	1,44±0,73	1,29±0,63	1,01±0,40	0,87±0,31
	HNA + Gel	1,53±0,50	1,39±0,42	1,49±0,41	1,67±0,85	1,10±0,30	0,84±0,17
Uréia (mg/dl)	Controle	21,85±8,34	20,02±2,01	20,10±6,20	24,83±8,84	23,25±7,80	21,24±4,63
	HNA + Amido	16,60±4,72	16,13±3,96	13,72±3,21*§§	13,93±2,16***§§§	13,75±1,97***§§§	14,73±4,16*§§§
	HNA + NaCl	20,13±5,97	14,24±4,20*	13,68±3,14*	13,15±2,83a***	13,91±4,01**	13,50±3,10a**
	HNA + Gel	22,52±5,41	20,52±3,91#	21,96±3,64##	23,05±2,49###	22,95±2,90###	23,97±2,84###
Glicose (mg/dl)	Controle	104,00±15,60	103,88±15,60	100,63±13,68	116,00±40,96	109,88±22,35	100,63±7,13
	HNA + Amido	117,86±13,08	243,71±25,54c***###§§§	153,29±21,02***###	144,57±18,99	115,14±11,57##	95,43±26,15
	HNA + NaCl	106,43±11,09	79,43±30,25	92,71±27,63	103,86±17,57	103,71±15,88	73,57±44,77
	HNA + Gel	110,14±21,89	114,71±15,97#	121,86±22,57	129,71±26,61	110,43±13,08	94,57±20,61
Osmol (mOsm/Kg)	Controle	294,96±5,67	293,27±4,41	292,78±4,72	291,70±4,88	295,51±6,03	290,50±3,91
	HNA + Amido	298,67±4,47	299,00±4,45	296,97±3,46	295,04±6,61	297,89±3,29	296,70±5,56
	HNA + NaCl	294,04±5,01	296,70±4,96	294,43±7,22	295,19±6,10	296,97±6,88	295,11±6,68
	HNA + Gel	294,39±3,81	295,99±3,09	295,09±2,54	295,02±3,06	295,82±3,26	295,56±3,65
Temp (°C)	Controle	38,0±0,9	38,0±0,9	38,1±0,8	38,3±0,7	38,5±0,7	38,5±0,6
	HNA + Amido	38,4±0,7	37,9±0,7	38,0±0,7	38,3±0,4	38,1±0,3	38,4±0,5
	HNA + NaCl	38,0±1,1	37,6±1,2	37,7±1,2	38,1±1,2	38,0±1,1	38,5±1,0
	HNA + Gel	37,7±0,6	37,3±0,6	37,8±0,6	38,4±0,8	38,5±0,7	38,6±0,5

Ht: Hematócrito; HCO³⁻: Bicarbonato; Na⁺: Sódio sérico; K⁺: Potássio sérico; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Hematócrito (Ht)

Conforme o esperado, o Ht diminuiu imediatamente após a hemodiluição nos três grupos tratados e retornou próximo aos valores basais após infusão do sangue (Figura 28).

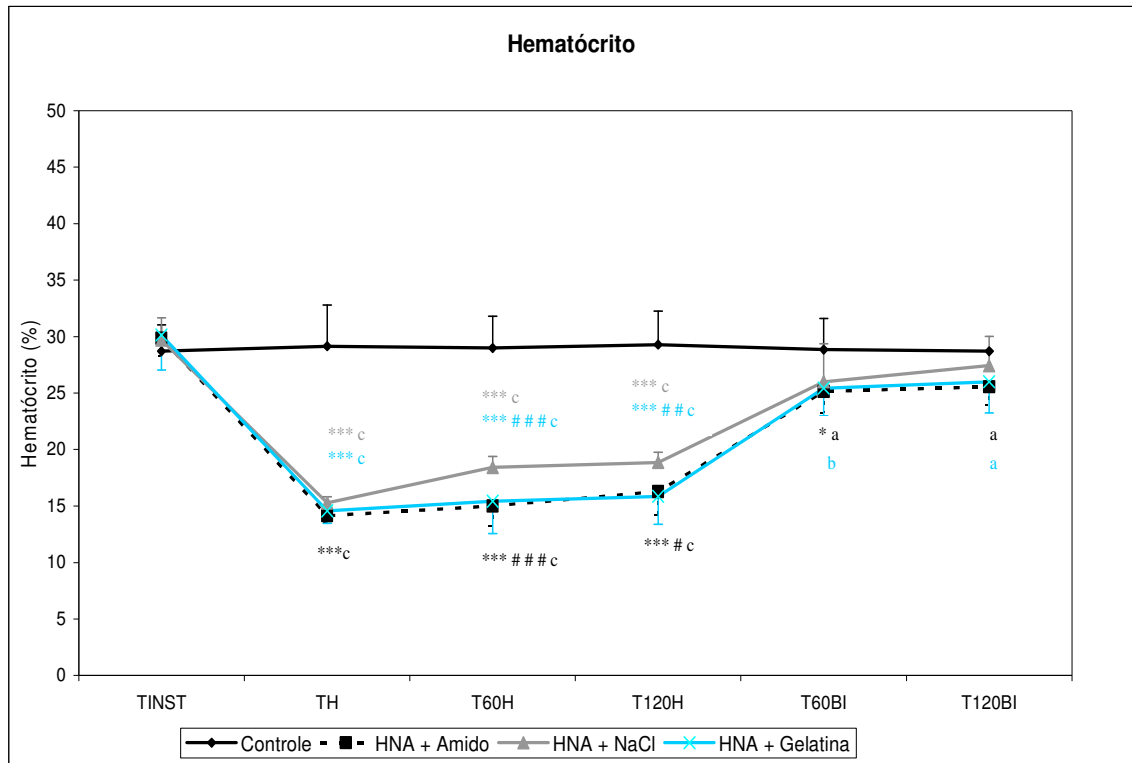


Figura 28: Variação do Hematócrito (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Bicarbonato Plasmático (HCO_3^-)

Concomitante com a diminuição do pH arterial no grupo HNA + NaCl, o bicarbonato plasmático apresentou diminuição significativa em TH, T60H e T120H em relação a TINST, com recuperação dos valores ao longo do tempo. Nos momentos após a HNA (TH, T60H e T120H), os grupos Controle, HNA + Amido e HNA + GEL diferiram significativamente do HNA + NaCl (Figura 29).

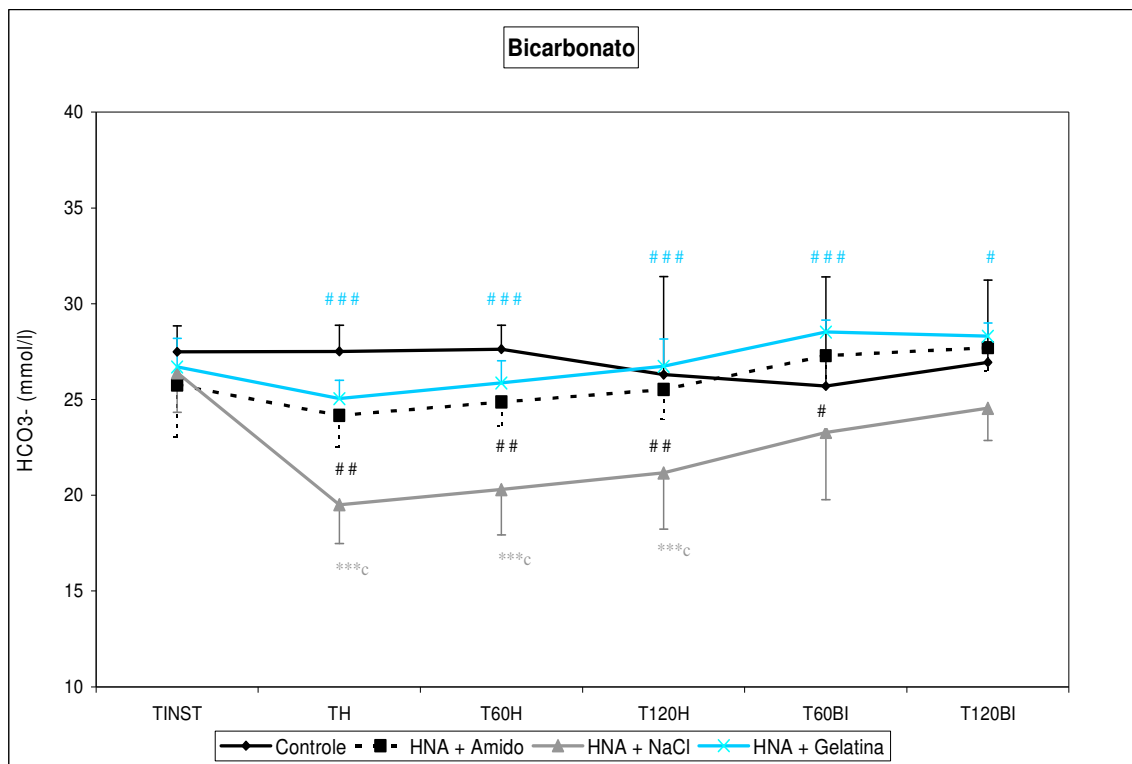


Figura 29: Variação do Bicarbonato no sangue arterial (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Sódio plasmático (Na)

O íon sódio aumentou após a hemodiluição no grupo HNA + NaCl em relação ao Controle e, em relação ao HNA+ Amido. Ao final do experimento, este íon apresentou-se significativamente mais alto nos grupos HNA + NaCl e HNA + Amido quando confrontados com o Controle (Figura 30).

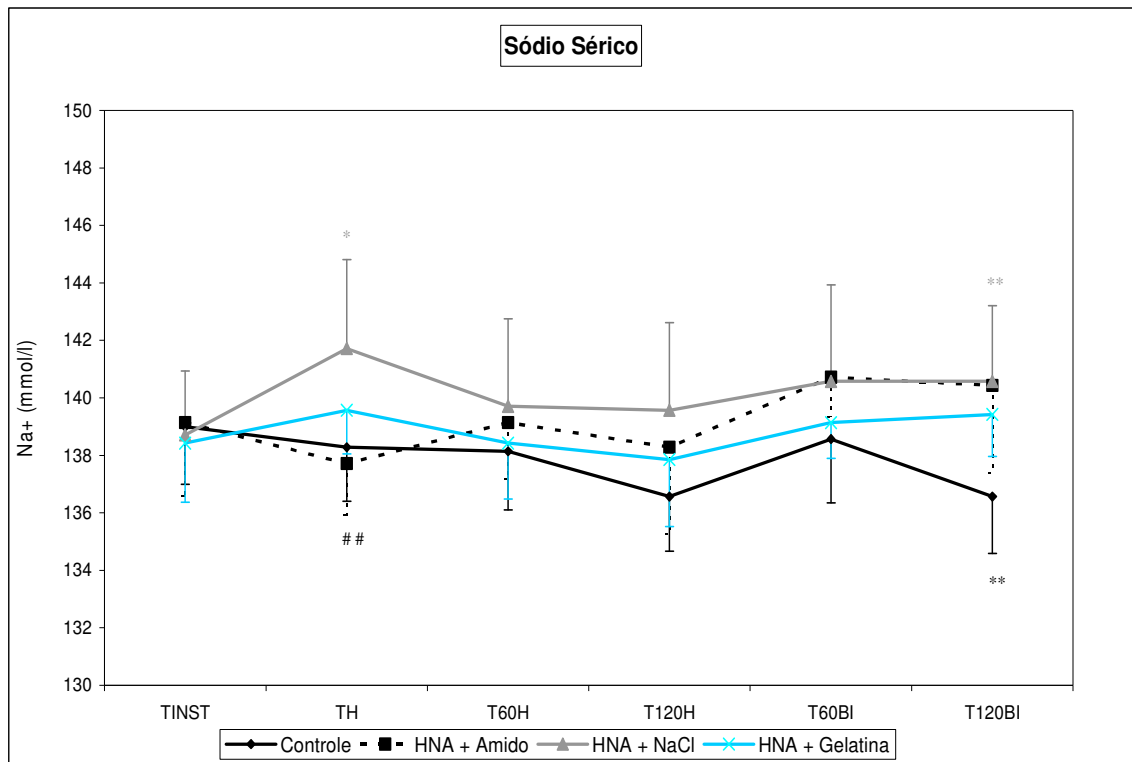


Figura 30: Variação do Íon Sódio (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Potássio plasmático (K)

Com relação ao íon potássio, houve diminuição significativa após a hemodiluição em relação ao TINST no grupo HNA + NaCl. Quando os grupos foram confrontados, foram observadas diferenças significativas entre HNA + NaCl e Controle, além de HNA + NaCl e HNA+ Amido imediatamente após a hemodiluição (TH) (Figura 31).

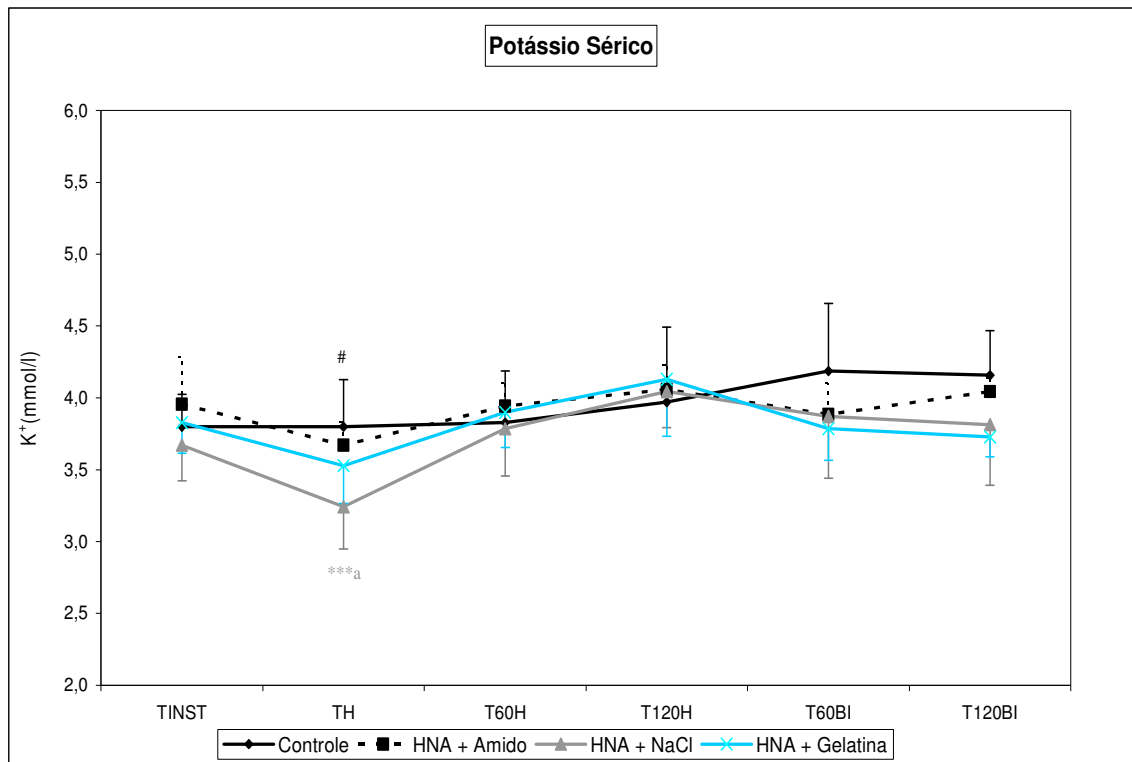


Figura 31: Variação do Íon Potássio (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Lactato no sangue arterial

O lactato apresentou comportamento similar em todos os grupos, diminuindo após a hemodiluição e ao longo do tempo até o final do experimento. Apenas no grupo HNA+ Amido ocorreu diminuição significativa em T120BI em relação a TINST (Figura 32).

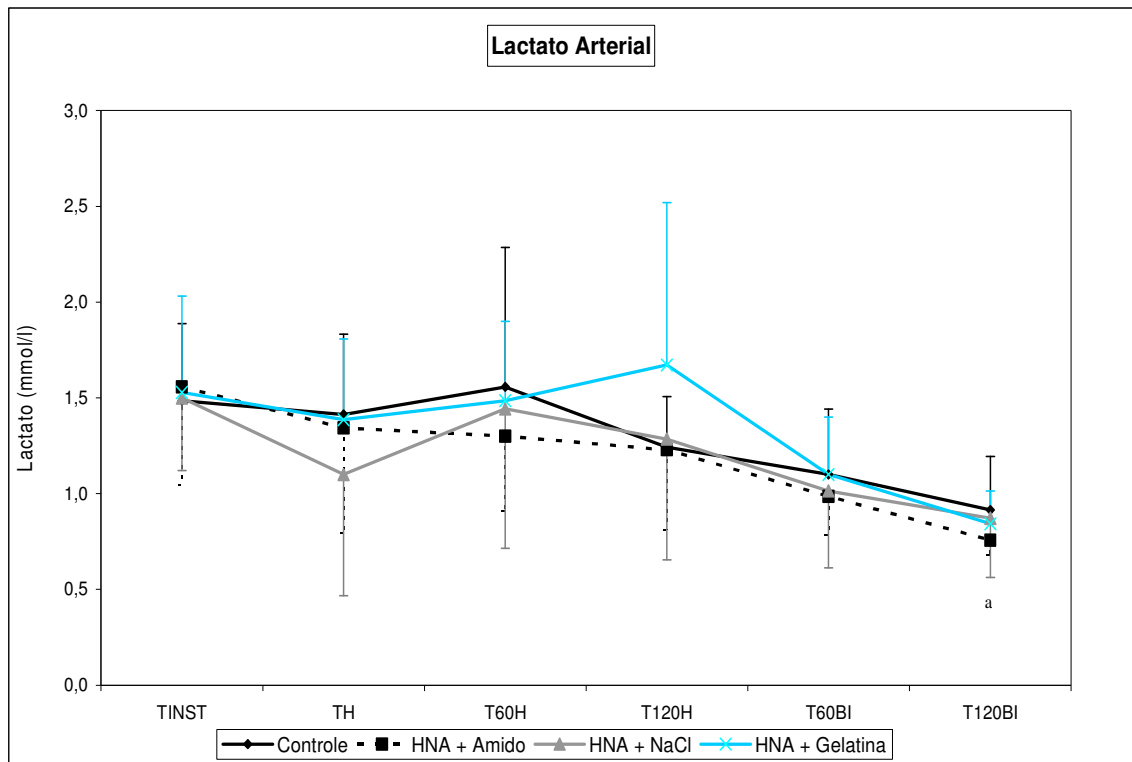


Figura 32: Variação do Lactato Arterial (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Uréia Plasmática

Com relação à uréia, os grupos HNA + NaCl e HNA + Amido demonstraram menores valores ao longo do experimento quando comparado aos grupos Controle e HNA + Gel (Figura 33).

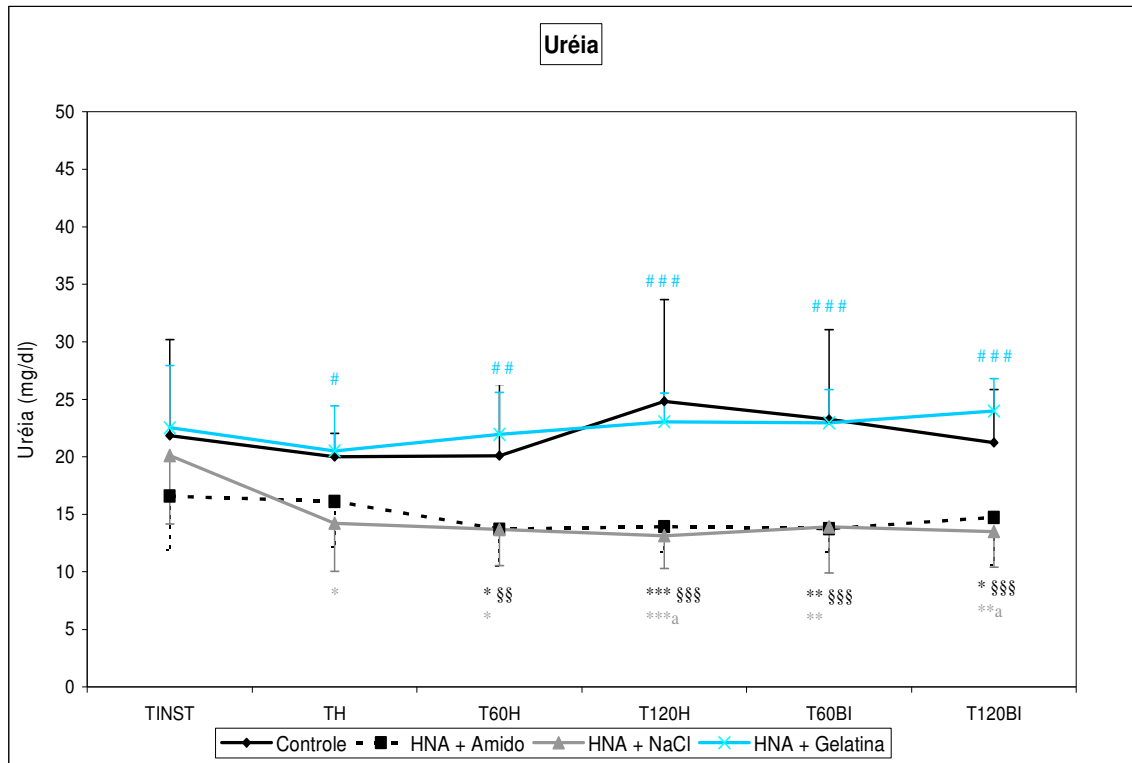


Figura 33: Variação dos níveis de Uréia Plasmática (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Glicose Plasmática

Este parâmetro apresentou aumento significativo após o procedimento de HNA no grupo HNA + Amido, diferindo significativamente dos outros grupos também em T60H e T120H. Ao final do experimento, a glicose plasmática do grupo HNA + Amido retornou aos valores basais (Figura 34).

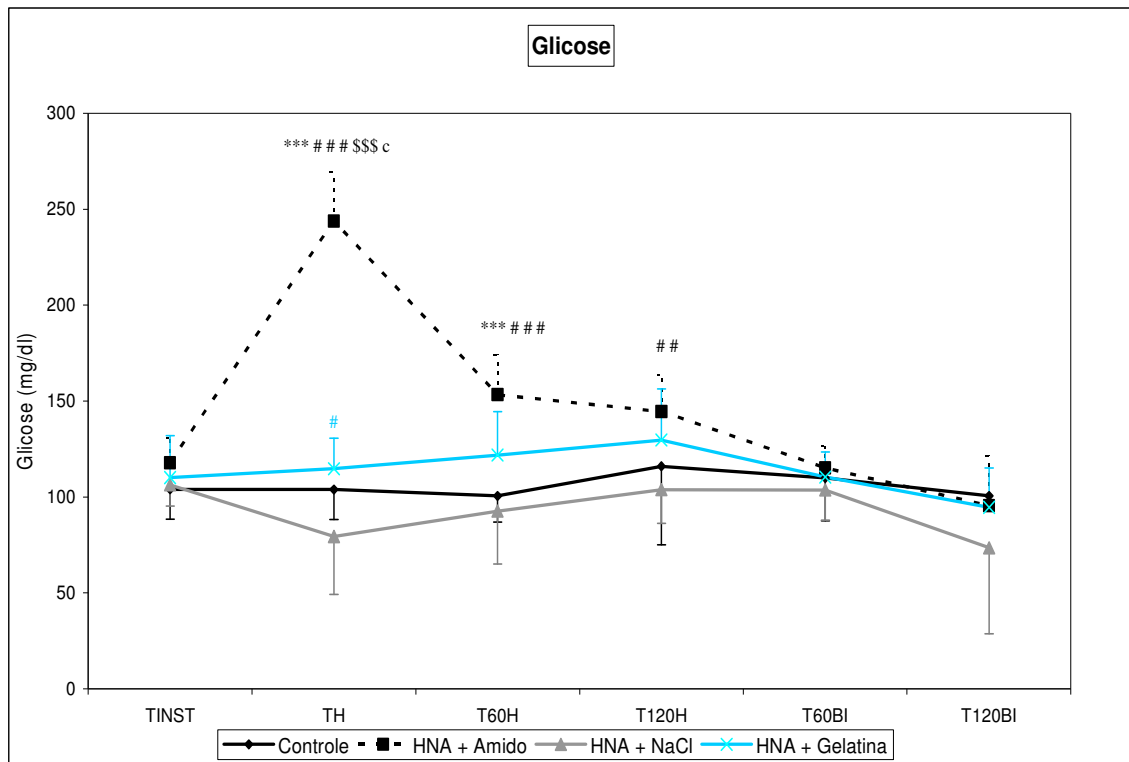


Figura 34: Variação dos níveis de Glicose Plasmática (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Osmolaridade

No que se refere á osmolaridade, não houve diferenças significativas entre os tempos ou grupos estudados (Figura 35).

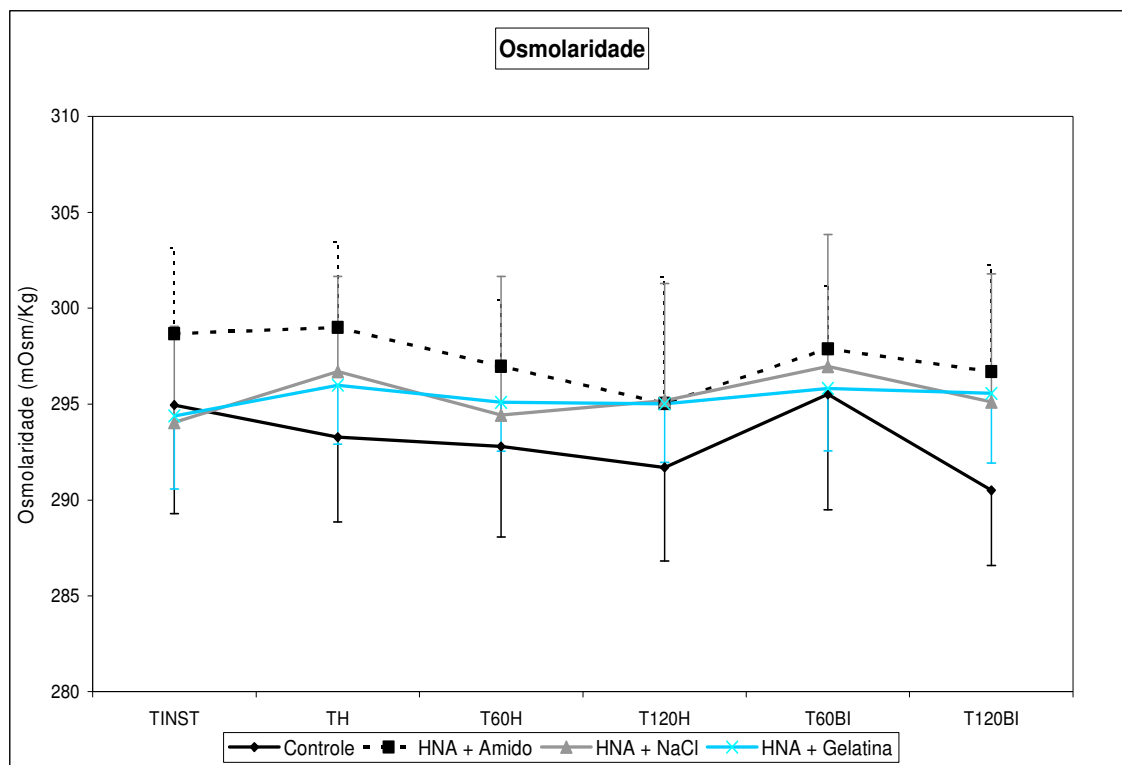


Figura 35: Variação da osmolaridade (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Temperatura

Com relação a este parâmetro, não houve diferenças significativas entre momentos ou grupos estudados (Figura 36).

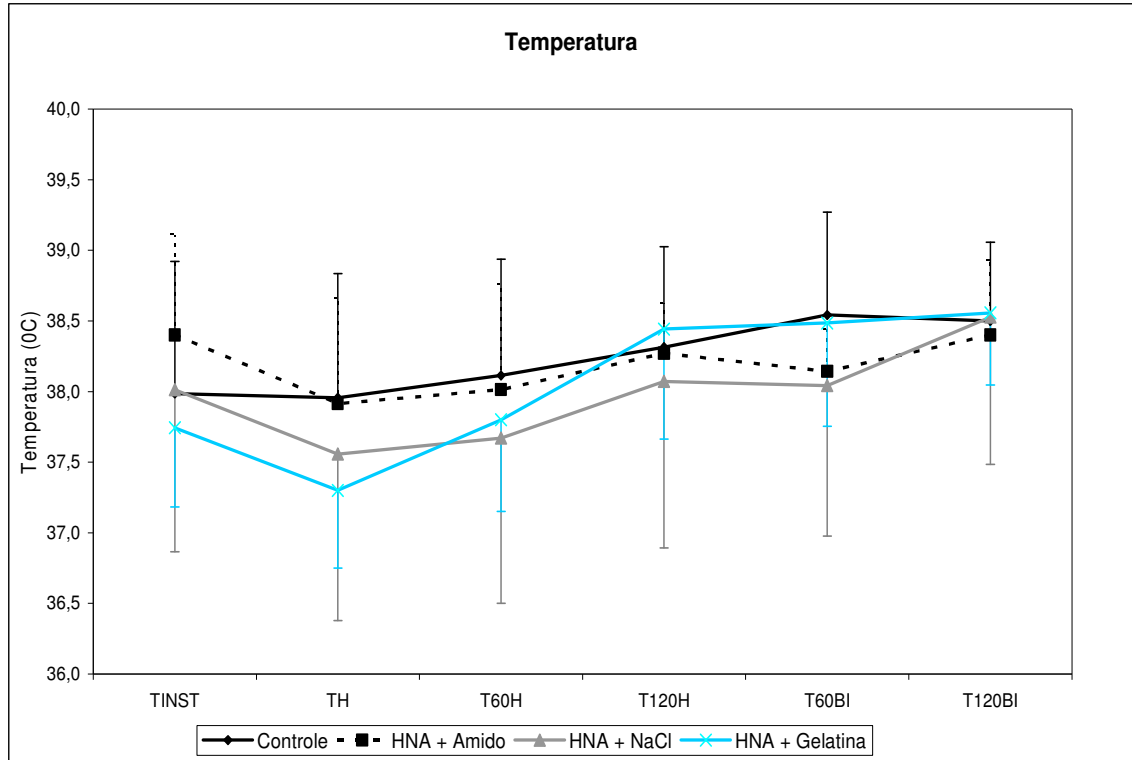


Figura 36: Variação da Temperatura (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

5.3 Parâmetros da Inflamação

A Tabela 7 contém os valores de burst oxidativo de neutrófilos e monócitos.

Tabela 7: Valores de burst oxidativo de neutrófilos e monócitos do sangue periférico induzidos pelo DCFH e estimulados pelo PMA dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

Parâmetro	Grupos	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Burst	Controle	26,62 \pm 4,48	27,06 \pm 8,13	25,35 \pm 7,62	33,66 \pm 7,72	29,71 \pm 8,75	25,30 \pm 7,56	27,74 \pm 8,60
Oxidativo de	HNA+ Amido	29,86 \pm 4,24	32,21 \pm 5,87	60,61\pm10,49c***	49,81\pm5,21c**	45,20\pm5,80a**	38,57\pm7,89**	34,67 \pm 4,92
Neutrófilos –	HNA + NaCl	28,98 \pm 1,72	30,23 \pm 7,04	55,94\pm10,38c***	45,89\pm8,10b*	46,18\pm9,42b***	35,48\pm7,02*	30,36 \pm 10,1
DCFH (MGIF)	HNA+Gel	28,11 \pm 2,68	26,31 \pm 7,98	67,48\pm23,67c***	50,76\pm13,89c**	46,52\pm11,61b***	36,48\pm5,35**	33,57 \pm 5,41
Burst	Controle	1152 \pm 574	1149 \pm 678	1143 \pm 660	1272 \pm 671	1125 \pm 598	1198 \pm 702	1290 \pm 776
Oxidativo de	HNA+ Amido	1149 \pm 529	1341 \pm 623	1927 \pm 881	1542 \pm 719	1622 \pm 650	1376 \pm 584	1342 \pm 571
Neutrófilos –	HNA + NaCl	1198 \pm 337	1440 \pm 511	1963 \pm 894	1808 \pm 984	1879 \pm 980	1786 \pm 827	1620 \pm 894
PMA (MGIF)	HNA+ Gel	1183 \pm 469	1076 \pm 368	2292\pm937*	1782 \pm 444	2031 \pm 910	1745 \pm 736	1747 \pm 953
Burst	Controle	11,16 \pm 4,59	13,81 \pm 4,86	10,58 \pm 4,30	11,24 \pm 3,16	11,25 \pm 4,13	11,38 \pm 5,19	11,40 \pm 5,02
Oxidativo de	HNA+ Amido	10,99 \pm 6,34	12,85 \pm 7,82	19,28 \pm 7,47	19,20 \pm 11,18	14,94 \pm 10,06	12,36 \pm 5,00	11,13 \pm 5,69
Monócitos –	HNA + NaCl	9,81 \pm 3,66	11,20 \pm 5,51	19,14 \pm 9,19	15,65 \pm 8,06	14,94 \pm 7,68	11,44 \pm 6,93	10,32 \pm 6,35
DCFH (MGIF)	HNA+ Gel	10,37 \pm 3,87	8,27 \pm 3,10	21,75\pm7,68a*	20,89\pm15,49*	14,38 \pm 3,78	11,63 \pm 3,90	11,00 \pm 3,38

DCFH: 2'7' diacetato de diclorofluoresceína; PMA: acetato miristato de forbol; MGIF: média geométrica da intensidade de fluorescência; Tbasal: 20 minutos após a aplicação da MPA; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Os dados apresentados à seguir são referentes ao *burst* oxidativo de neutrófilos do sangue periférico representado pelo DCFH e induzido pelo PMA nos animais estudados. As figuras 37 e 38 demonstram os citogramas e respectivos histogramas de leucócitos do sangue de suínos e foram utilizados para análise individual das populações celulares.

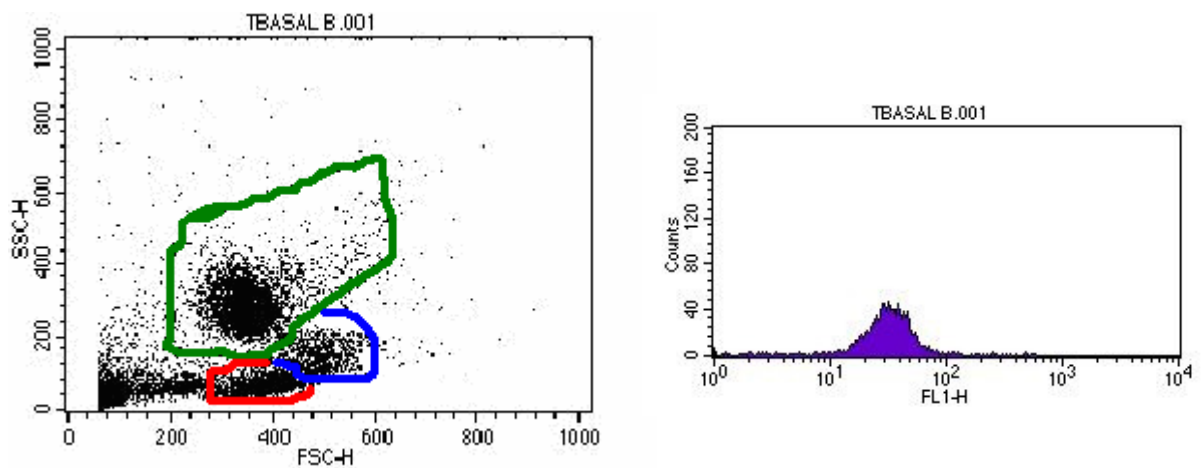


Figura 37: Citograma demonstrando as populações de neutrófilos (verde), monócitos (azul) na indução do burst com o DCFH, além de linfócitos (vermelho) do sangue periférico. O histograma demonstra o burst oxidativo dos neutrófilos calibrado entre 10^1 e 10^2 no momento basal de um animal do grupo HNA + Gelatina.

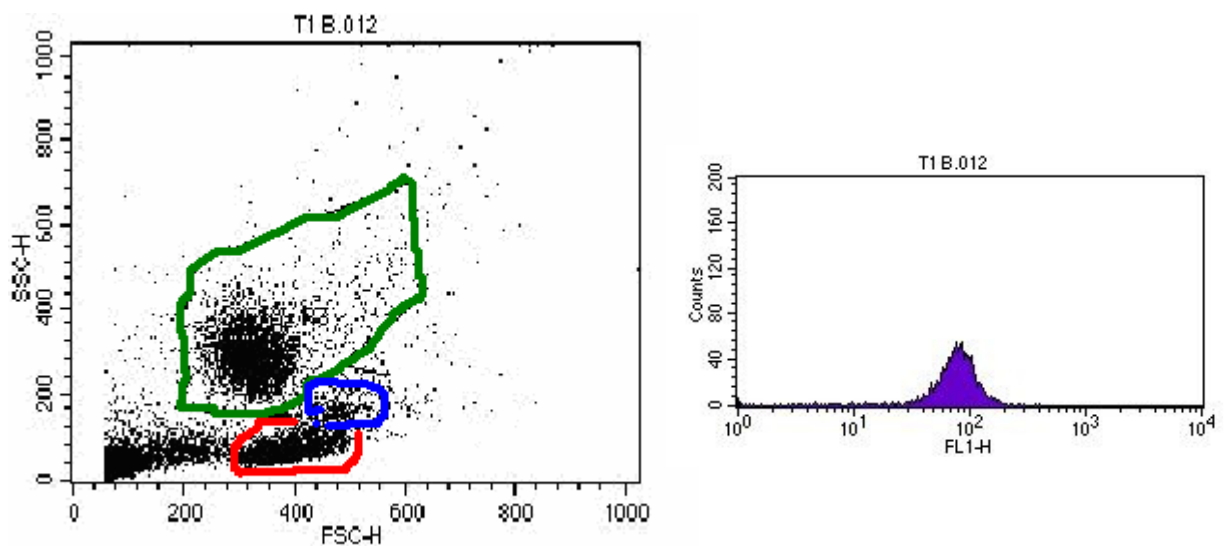


Figura 38: Citograma demonstrando as populações de neutrófilos (verde), monócitos (azul) na indução do burst com o DCFH, além de linfócitos (vermelho) do sangue periférico. O histograma demonstra o burst oxidativo dos neutrófilos no momento imediatamente após a hemodiluição (T1) de um animal do grupo HNA + Gelatina.

Burst oxidativo de neutrófilos do sangue periférico representado pelo DCFH

O *burst* oxidativo de neutrófilos do sangue periférico representado pelo DCFH aumentou significativamente nos grupos submetidos à hemodiluição nos momentos TH, T60H, T120H e T60BI quando comparados ao grupo Controle (Figura 39).

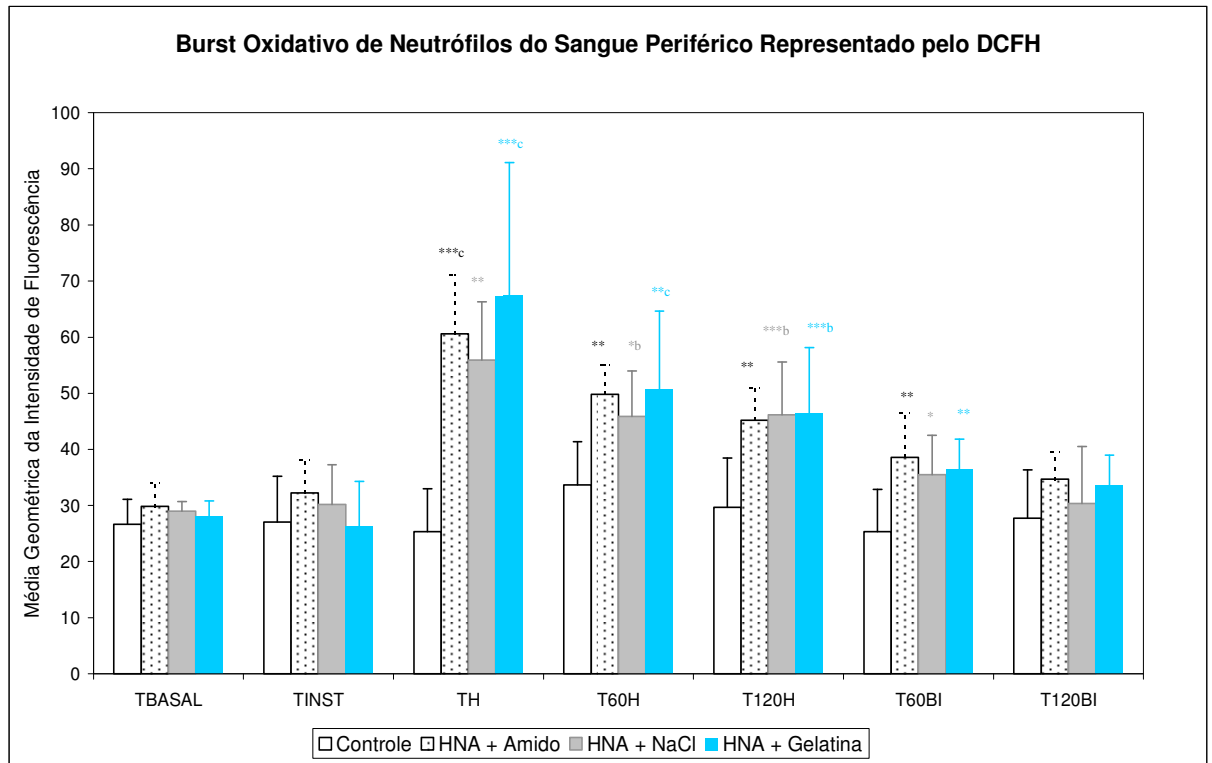


Figura 39: Variação do Burst Oxidativo de Neutrófilos do Sangue Periférico Representado pelo reagente DCFH (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TBASAL; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

A Figura 40 demonstra a mudança em porcentagem do *burst* oxidativo representado pelo DCFH dos momentos TINST, TH, T60H, T120H, T60BI e T120BI em relação ao momento TBasal nos grupos avaliados.

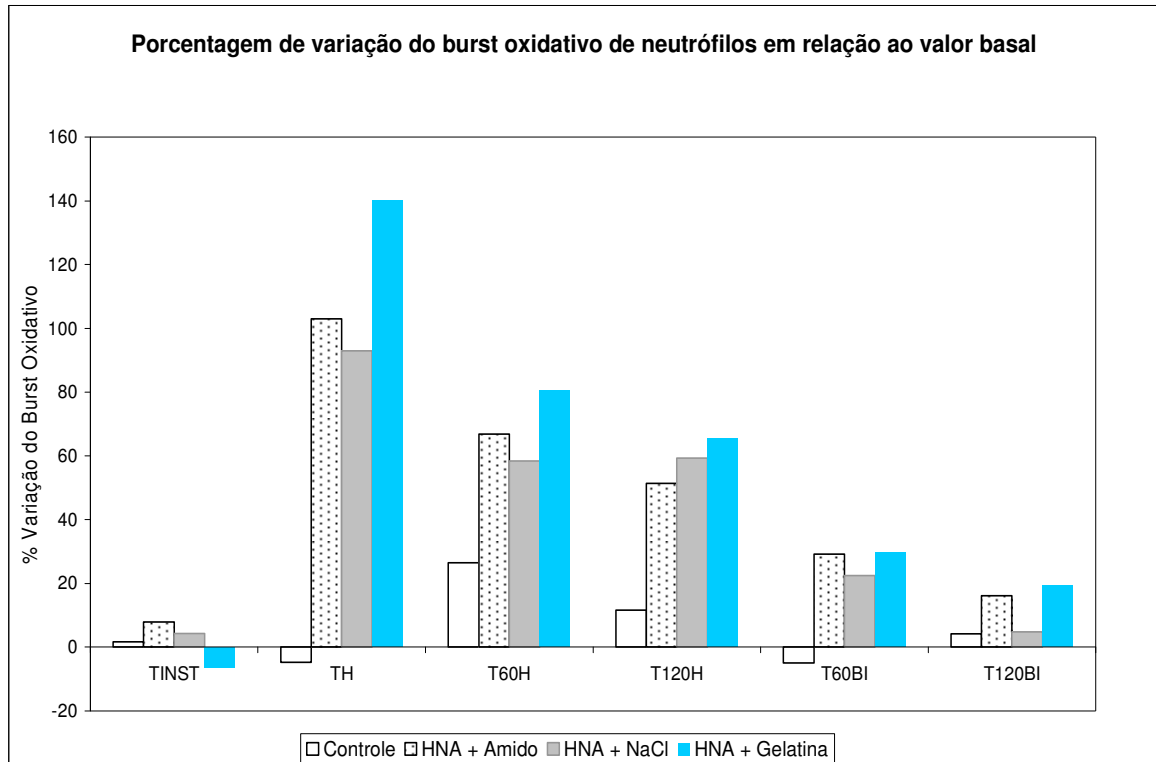


Figura 40: Porcentagem de mudança do burst oxidativo de neutrófilos em relação ao valor basal de suínos submetidos ou não ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Burst oxidativo de neutrófilos do sangue periférico estimulado pelo PMA

Quando testamos o PMA, observamos a mesma tendência ao aumento do burst oxidativo dos neutrófilos imediatamente após a hemodiluição, seguido da diminuição próxima aos valores basais ao final do período de observação (Figura 41). No entanto, apenas o grupo HNA + Gel apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao Controle imediatamente após a hemodiluição.

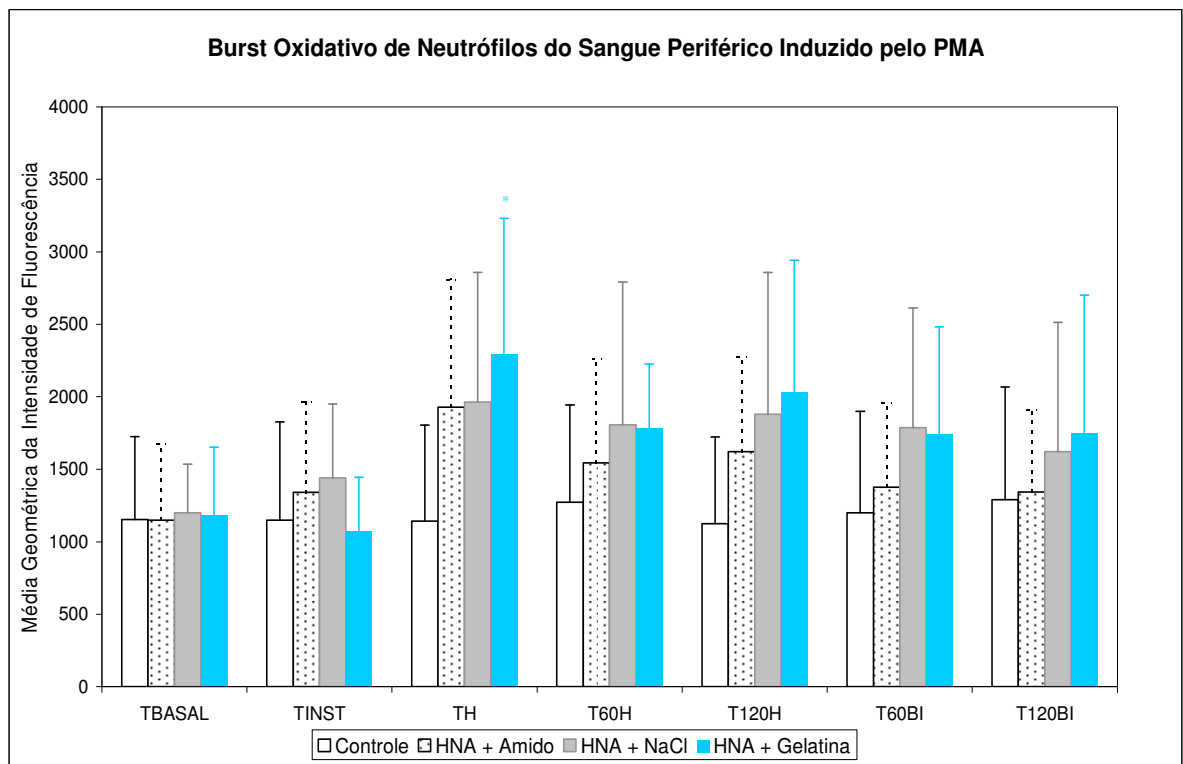


Figura 41: Variação do Burst Oxidativo de Neutrófilos do Sangue Periférico Induzido pelo Estímulo PMA (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TBASAL; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Burst oxidativo de monócitos do sangue periférico representado pelo DCFH

Quando a população de monócitos representados pelo DCFH foi analisada no citograma, observou-se o mesmo comportamento dos neutrófilos, ou seja, a tendência ao aumento do burst após a hemodiluição, como demonstra a Figura 42. Apenas o grupo HNA + Gel apresentou diferença entre momentos e em relação ao grupo Controle em TH.

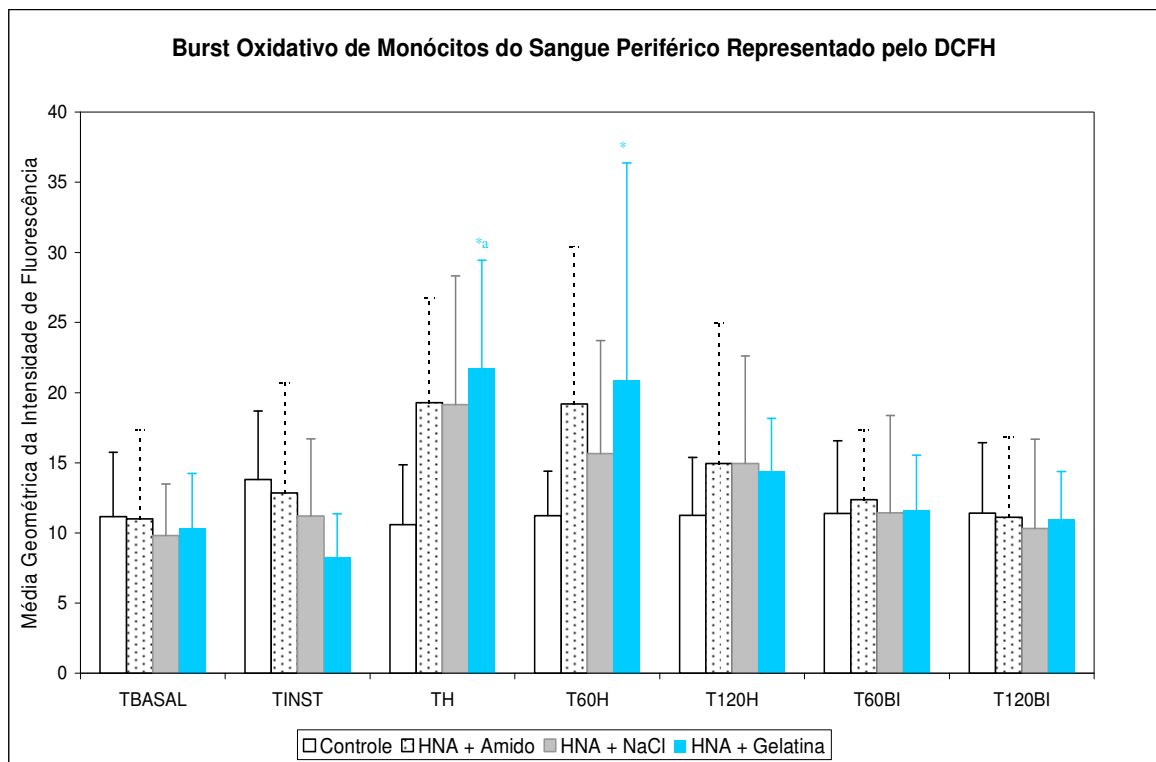


Figura 42: Variação do Burst Oxidativo de Monócitos do Sangue Periférico Representado pelo reagente DCFH (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TBASAL; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Lavado Broncoalveolar

Foi observada no BALF a presença de duas populações distintas nos citogramas. Após análise destas populações por meio do “cell-sorting” no citômetro de fluxo, observamos um grupo de células pouco ativadas denominadas células monocíticas e outro grupo celular localizado à direita no citograma, posteriormente observados no

microscópio, os macrófagos. Os linfócitos foram claramente identificados, mas não correspondem objeto deste estudo. As figuras 43 e 44 demonstram os citogramas e respectivos histogramas das populações do Lavado Broncoalvolar de suínos e foram utilizados para análise individual das populações celulares. Os dados referentes ao burst oxidativo das células pulmonares estão representados na Tabela 8.

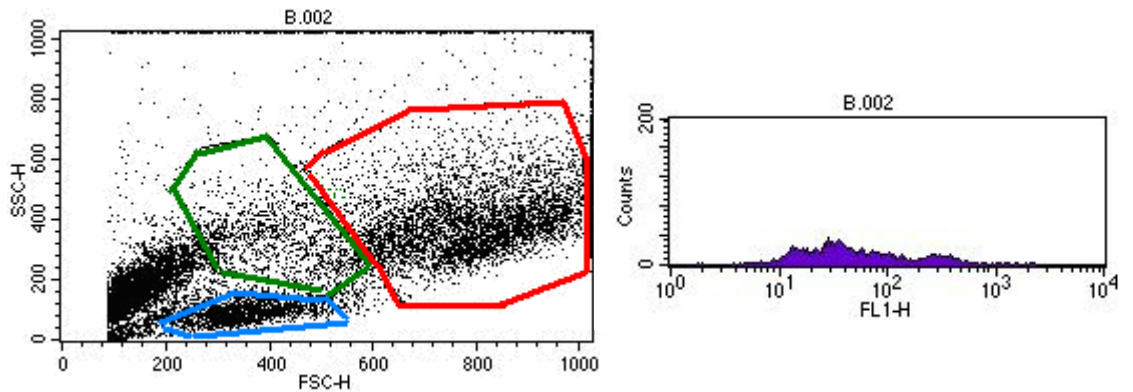


Figura 43: Citograma demonstrando as populações de macrófagos (vermelho), células monocíticas (verde) na representação do burst oxidativo com o DCFH, além de linfócitos (azul) do BALF. O histograma demonstra o burst oxidativo da população de macrófagos entre 10^1 e 10^2 de um animal do grupo HNA + Gelatina.

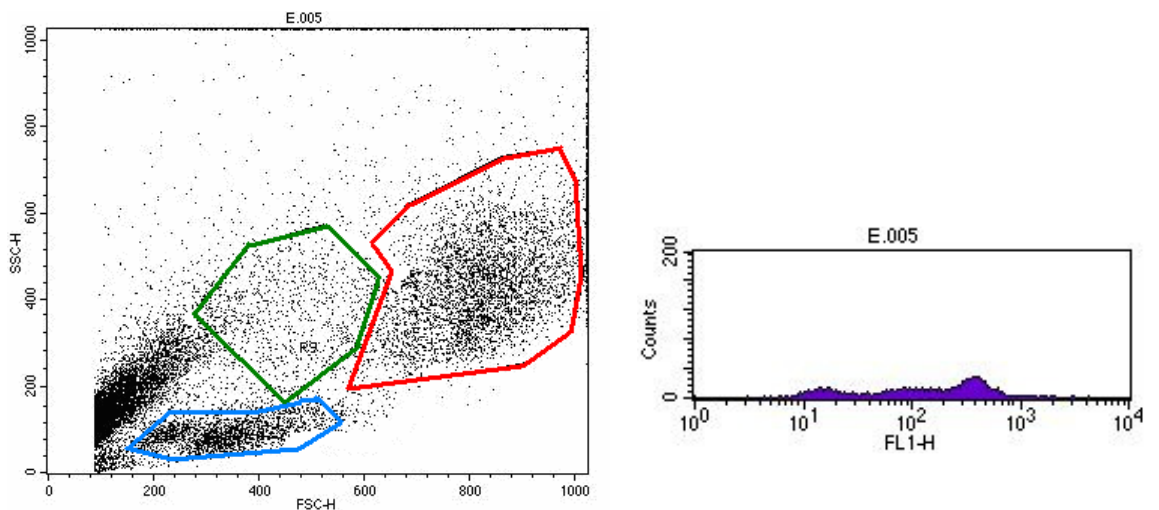


Figura 44: Citograma demonstrando as populações de macrófagos (vermelho), células monocíticas (verde) na indução do burst com o PMA, além de linfócitos (azul) do BALF. O histograma demonstra o burst oxidativo da população de macrófagos entre 10^2 e 10^3 de um animal do grupo HNA + Gelatina.

Tabela 8: Valores de burst oxidativo de células pulmonares (células monocíticas e macrófagos) presentes no lavado broncoalveolar representados pelo DCFH, além de induzidos pelo PMA dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

Parâmetro	Grupos	DCFH		PMA	
		Células	Macrófagos	Células	Macrófagos
		Monocíticas		Monocíticas	
Burst	Controle	7,94 \pm 2,88	99,54 \pm 14,80	14,69 \pm 14,90	188,62 \pm 63,39
Oxidativo de	HNA+ Amido	22,99 \pm 13,42	110,61\pm60,86§	57,17\pm51,75*	223,00\pm139,03§§§
Células	HNA + NaCl	16,12 \pm 10,55	149,93 \pm 39,78	19,87 \pm 9,79	287,63 \pm 87,15
Pulmonares	HNA+Gelatina	39,15\pm22,36***#	433,48\pm241,36*	87,42\pm73,69**	874,98\pm420,39****##

(MGIF)

DCFH: 2'7' diacetato de diclorofluoresceína; PMA: acetato miristato de forbol; MGIF: média geométrica da intensidade de fluorescência. (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Os leucócitos e células epiteliais do BALF foram contados em câmara de Neubauer conjuntamente, perfazendo um total de 27 no grupo Controle; 29 no grupo HNA + Amido; 36 no grupo HNA + NaCl 0,9% e 65 células no grupo HNA + Gelatina.

Quando o burst oxidativo de células monocíticas pulmonares representado pelo DCFH foi estudado, foram observadas diferenças significativas entre os grupos HNA + Gel (39,15 \pm 22,36) e Controle (7,94 \pm 2,88; p<0,001), além de HNA + Gel e HNA + NaCl (16,12 \pm 10,55; p=0,042). No estudo do burst oxidativo representado pelo DCFH dos macrófagos pulmonares, notou-se diferenças entre HNA + Gel (433,48 \pm 241,36) e Controle (99,54 \pm 14,80; p<0,05) e HNA + Gel e HNA + Amido (110,61 \pm 60,86; p<0,05).

No burst oxidativo induzido pelo PMA de células monocíticas pulmonares, o grupo Controle (14,69 \pm 14,90) diferiu significativamente do HNA + Amido (57,17 \pm 51,75; p=0,040) e do HNA + Gel (87,42 \pm 73,69; p=0,010). Quando os macrófagos foram estudados, o grupo HNA + Gel (874,98 \pm 420,39) apresentou

diferença significativa em relação ao Controle ($188,62 \pm 63,39$; $p < 0,001$), HNA + Amido ($223,00 \pm 139,03$; $p < 0,001$) e HNA + NaCl ($287,63 \pm 87,15$; $p < 0,001$).

Os resultados do burst oxidativo representado pelo DCFH e induzido pelo PMA estão apresentados nas Figuras 45 e 46, respectivamente.

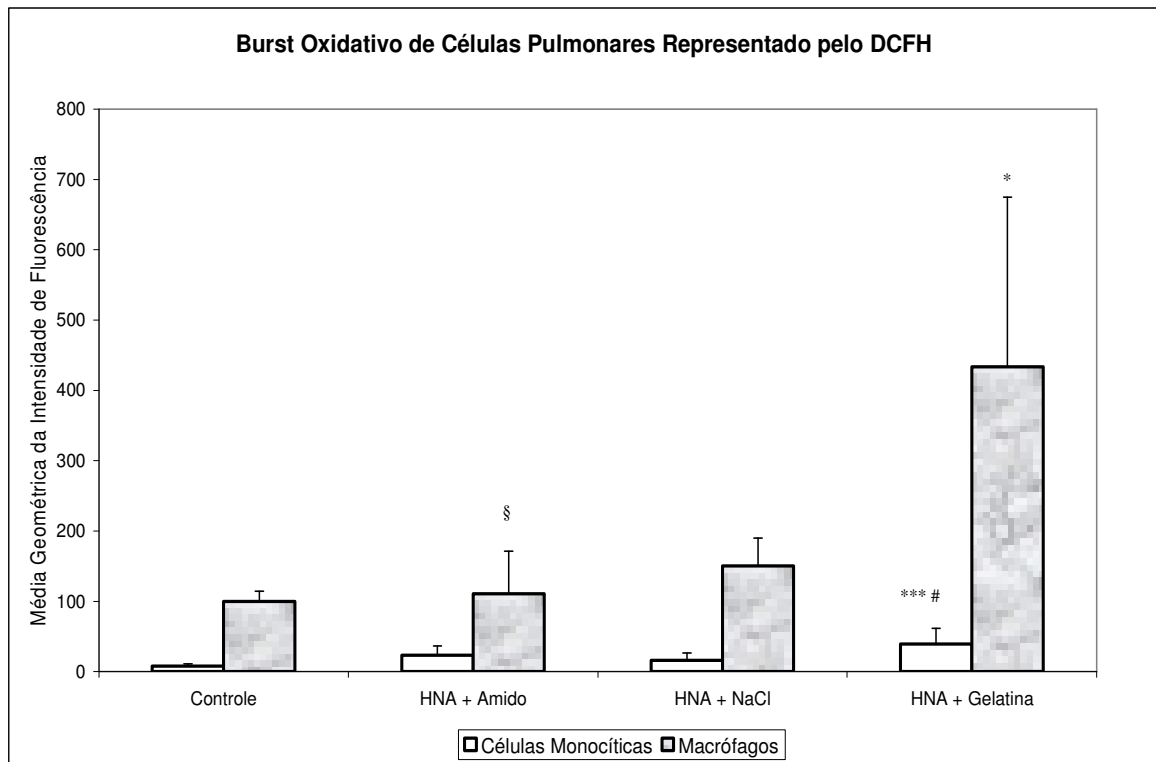


Figura 45: Variação do Burst Oxidativo de Células Pulmonares do Lavado Broncoalveolar Representado pelo reagente DCFH (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

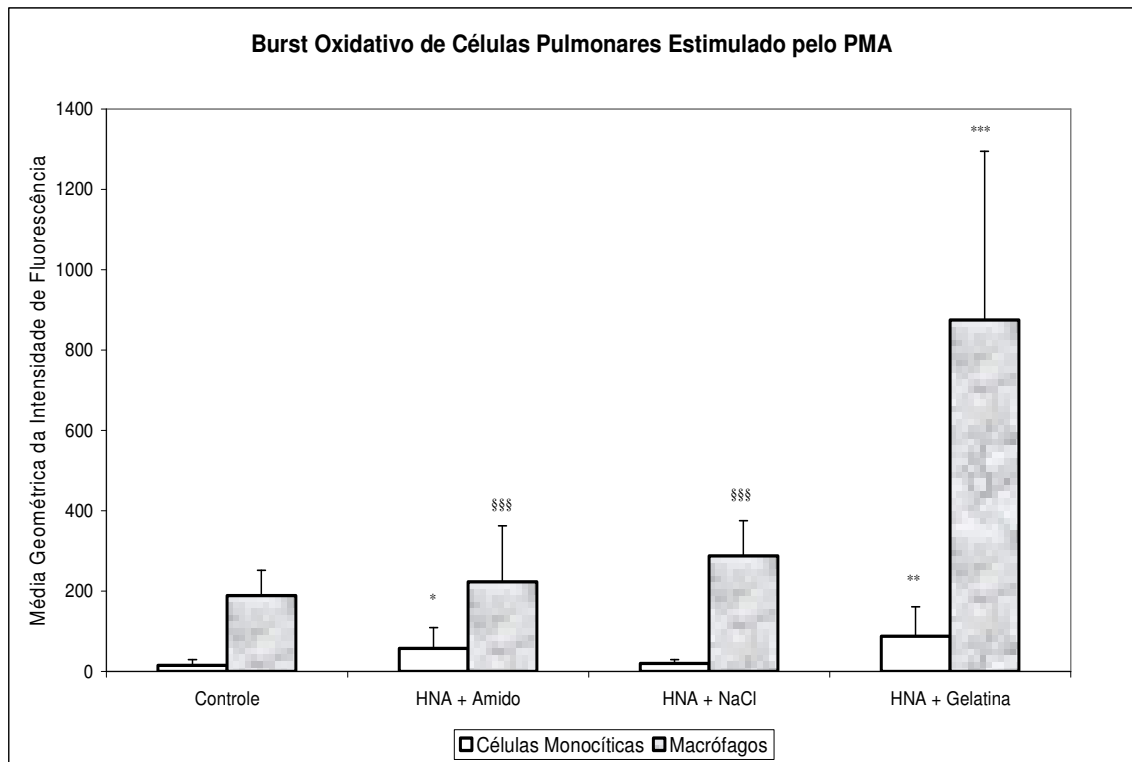


Figura 46: Variação do Burst Oxidativo de Células Pulmonares do Lavado Broncoalveolar Induzido pelo reagente PMA (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Interleucinas

Os valores obtidos em absorvância (densidade óptica) foram transformados para picogramas/ml (Tabela 9) por meio de uma curva de regressão não-linear, utilizando a curva padrão (densidade óptica) e o valor correspondente da concentração (pg/ml).

Tabela 9: Valores séricos de Fator de Necrose Tumoral- α , Interleucina-1 β , Interleucina-6 e Interleucina-10 dos animais do grupo do grupo Controle e grupos Hemodiluição com diferentes soluções de reposição volêmica (média \pm desvio-padrão). São Paulo, 2009.

IL	Grupo	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
TNF- α (pg/ml)	Controle	140 \pm 72	79 \pm 60	91 \pm 42	76 \pm 41	98 \pm 15	88 \pm 31	71 \pm 18
	HNA+Amido	158 \pm 77	107 \pm 66	176 \pm 80	172\pm111*	126\pm92§§	112 \pm 59	70\pm14§
	HNA+NaCl	179 \pm 116	89 \pm 22	148 \pm 78	214\pm76***	142\pm102§	165 \pm 74	119 \pm 49
	HNA+Gel	117 \pm 29	125 \pm 13	221\pm162*	323\pm204***	304\pm174**	216 \pm 180	211\pm187*
IL-1 β (pg/ml)	Controle	98 \pm 27	113 \pm 53	100 \pm 81	84 \pm 46	103 \pm 51	53 \pm 29	52 \pm 9
	HNA+Amido	112 \pm 54	99 \pm 77	119 \pm 26	85\pm54§	103 \pm 57	100 \pm 57	73 \pm 57
	HNA+NaCl	84 \pm 49	70 \pm 26	107 \pm 76	166 \pm 71	78 \pm 33	60 \pm 34	67 \pm 25
	HNA+ Gel	66 \pm 25	66 \pm 32	75 \pm 35	224\pm149a*	135 \pm 68	104 \pm 70	82 \pm 62
IL-6 (pg/ml)	Controle	203 \pm 123	179 \pm 35	136 \pm 35	146 \pm 49	158 \pm 35	163 \pm 50	148 \pm 35
	HNA+Amido	223 \pm 137	204 \pm 154	230 \pm 79	218 \pm 166	220 \pm 145	271 \pm 198	201 \pm 146
	HNA+NaCl	168 \pm 84	149 \pm 42	199 \pm 72	365\pm211**	180 \pm 60	204 \pm 93	242 \pm 129
	HNA+ Gel	154 \pm 61	214 \pm 87	238 \pm 78	331\pm171*	327 \pm 174	340\pm189a	337 \pm 238
IL-10 (pg/ml)	Controle	29 \pm 15	19 \pm 6	28 \pm 10	21 \pm 12	26 \pm 12	27 \pm 17	17 \pm 8
	HNA+Amido	23 \pm 11	33 \pm 16	42 \pm 22	41 \pm 29	32 \pm 30	31 \pm 21	22 \pm 16
	HNA+NaCl	29 \pm 21	26 \pm 13	44 \pm 34	59\pm35**	37 \pm 26	32 \pm 19	28 \pm 8
	HNA+ Gel	25 \pm 9	25 \pm 11	35 \pm 13	59\pm28**	45 \pm 27	39 \pm 22	46\pm32*

Tbasal: 20 minutos após a aplicação da MPA; TINST: imediatamente antes da HNA; TH: imediatamente após a HNA; T60H: 60 minutos após HNA; T120H: 120 minutos após HNA; T60BI: 60 minutos após o final da infusão do sangue; T120BI: 120 minutos após o final da infusão do sangue (a: p<0,05; b: p<0,01; c: p<0,001 diferente de TINST; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α)

Com relação ao TNF- α , houve um aumento desta variável em todos os grupos imediatamente após a hemodiluição, sendo significativo apenas no grupo HNA + Gel quando confrontado com o Controle. No momento T60H, os grupos HNA + Amido, HNA + NaCl e HNA + Gel apresentaram valores significativamente mais altos que o Controle. Passados 120 minutos do final da hemodiluição, o grupo HNA + Gel apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao Controle, HNA + Amido e HNA + NaCl. Ao final do experimento, apenas o grupo HNA + Gel demonstrou valores significativamente mais altos quando confrontado com Controle e HNA + Amido (Figura 47).

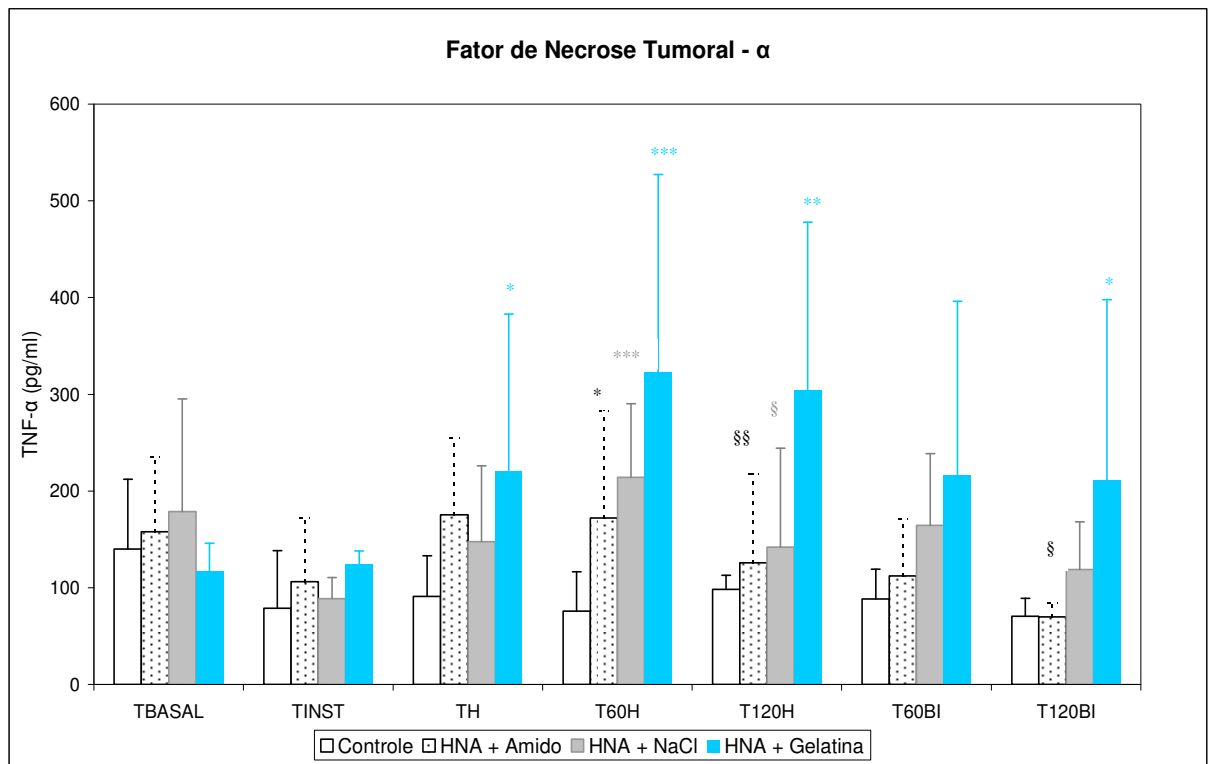


Figura 47: Variação do Fator de Necrose Tumoral- α (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TBasal; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Interleucina - 1 β (IL-1 β)

No que alude a IL-1 β , o grupo HNA + Gel apresentou níveis significativamente mais altos entre momentos e em relação aos grupos Controle e HNA + Amido no momento T60H (Figura 48).

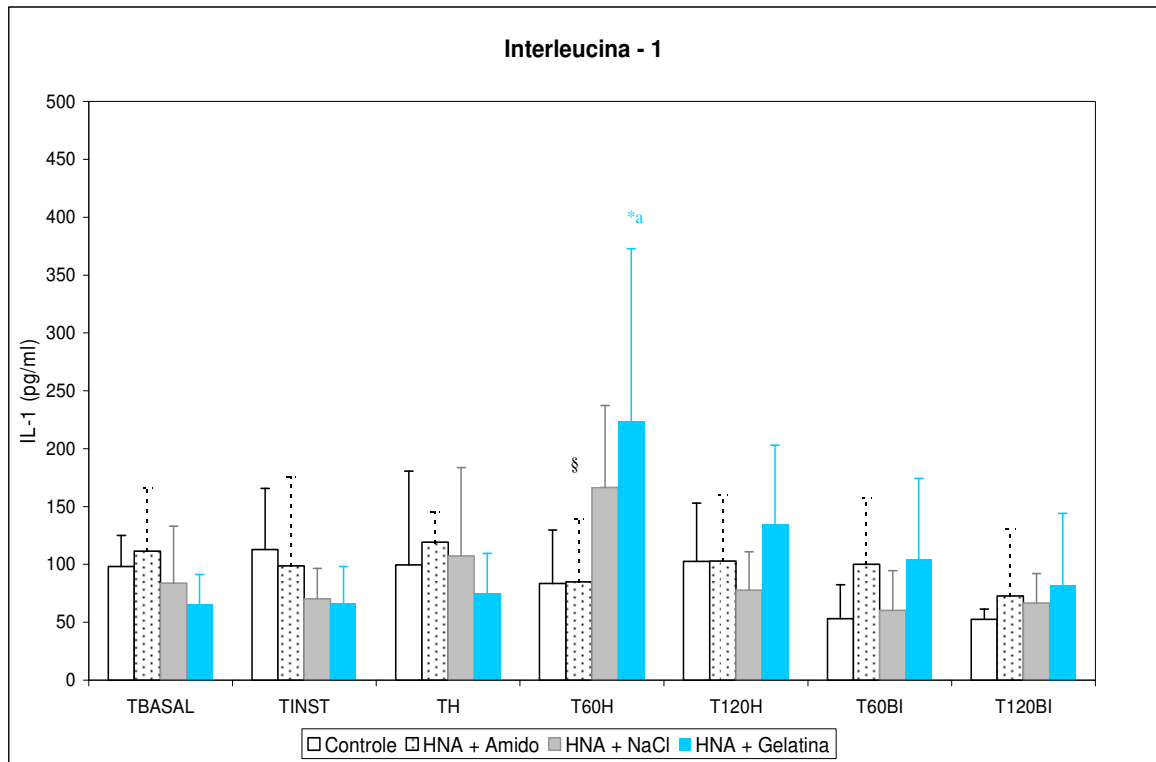


Figura 48: Variação da Interleucina-1 β (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Interleucina-6 (IL-6)

Foram observados níveis significativamente mais altos relacionados a IL-6 nos grupos HNA + NaCl e HNA + Gel no momento T60H (Figura 49).

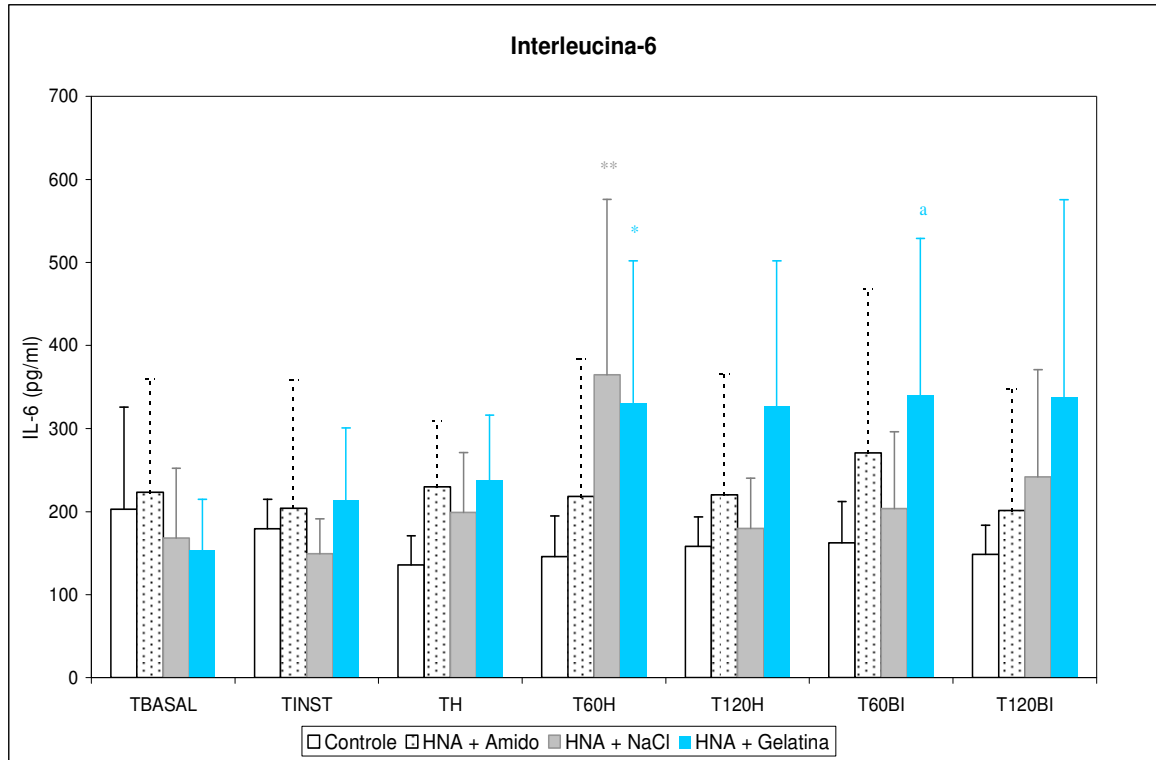


Figura 49: Variação da Interleucina-6 (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Interleucina-10 (IL-10)

No que se refere a IL-10, esta citocina apresentou-se aumentada em relação ao Controle nos grupos HNA + NaCl e HNA + Gel 60 minutos após a hemodiluição. Ao final do experimento (T120BI), apenas o grupo HNA + Gel diferiu significativamente do Controle (Figura 50).

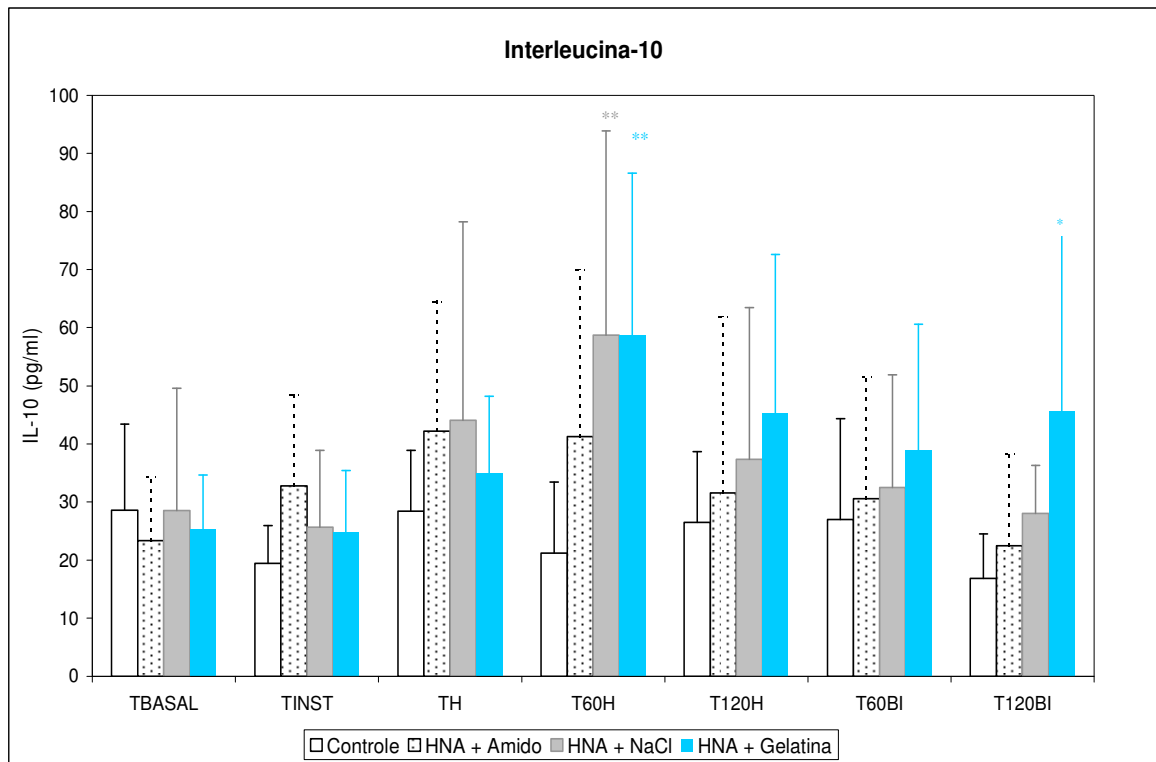


Figura 50: Variação da Interleucina-10 (média e desvio-padrão) em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009 (a: $p < 0,05$; b: $p < 0,01$; c: $p < 0,001$ diferente de TINST; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ diferente do grupo Controle; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$; ###: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + NaCl; §: $p < 0,05$; §§: $p < 0,01$; §§§: $p < 0,001$ diferente do grupo HNA + GEL).

Interleucina-8 (IL-8)

A IL-8 mensurada apenas no lavado broncoalveolar não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados (Figura 51).

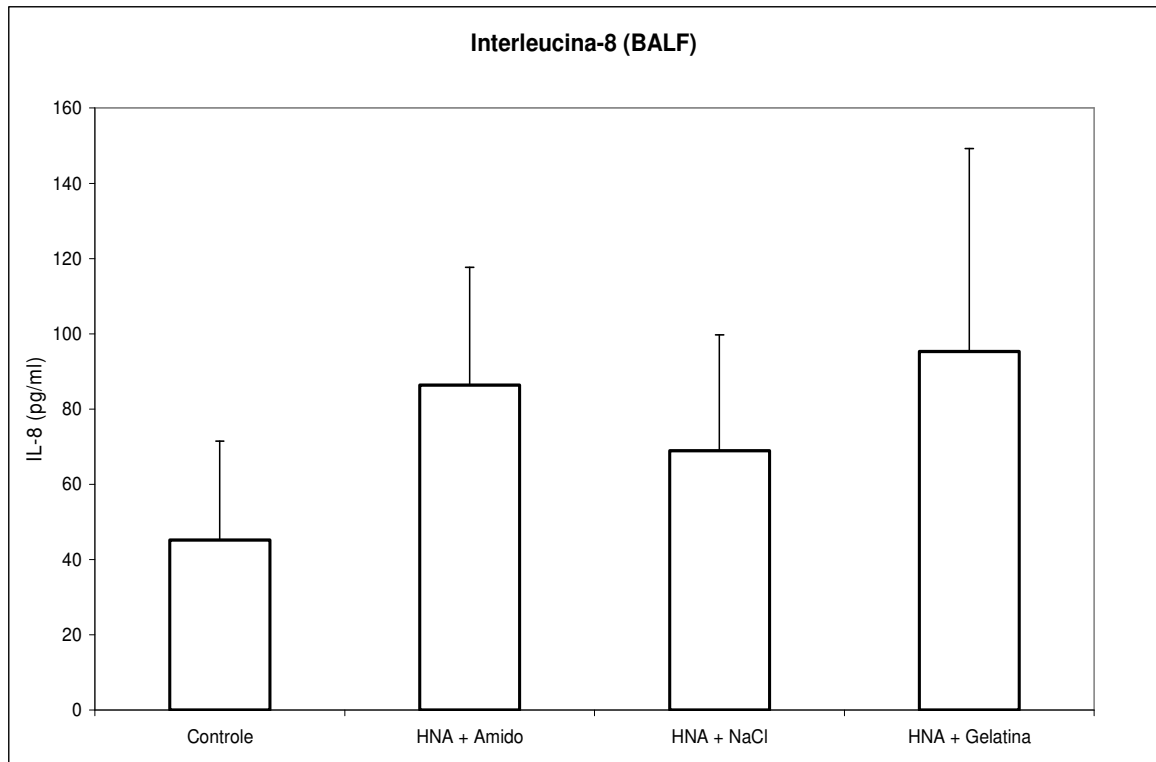


Figura 51: Variação da Interleucina-8 (média e desvio-padrão) no lavado broncoalveolar em suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Histopatológico

Com relação ao exame histopatológico, foi realizada uma classificação quanto à infiltração de células mononucleares e polimorfonucleares no pulmão (Tabela 10), além da classificação do edema intersticial pulmonar, colapso alveolar e congestão, executada nos cinco cortes de pulmão estudados em todos os grupos (Tabela 11).

Tabela 10. Classificação quanto à infiltração de células mononucleares e polimorfonucleares nos diferentes lobos pulmonares (mediana, limite superior e inferior). São Paulo, 2009.

IIC	AD			AE			DD			DE			Acessório		
	Mn	Nt	E/M	Mn	Nt	E/M	Mn	Nt	E/M	Mn	Nt	E/M	Mn	Nt	E/M
Controle	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	(0-1)	(0-1)	(0-1)	(0-1)	(0-1)	(0-1)	(0-1)	(0-1)	(0)	(0-1)	(0-1)	(0)	(0-1)	(0)	(0)
Amido	1	1	0	1,5	0[§]	0[§]	2	1	0	2	1	0	1	0	0
	(1-2)	(0-1)	(0-1)	(0-2)	(0-1)	(0-2)	(0-2)	(0-1)	(0)	(0-2)	(0-1)	(0)	(0-1)	(0)	(0)
NaCl	2^{**}	1,5	0	3^{**}	2	2	2	1	0	3[*]	2	0	1	0	0
	(1-3)	(0-2)	(0-1)	(1-3)	(0-2)	(0-2)	(0-2)	(0-1)	(0)	(1-3)	(0-2)	(0)	(0-1)	(0)	(0)
Gelatina	1	1	0	1	3[*]	3^{**}	1	1	0	1	2	0	0,5	0	0
	(0-2)	(0-1)	(0-1)	(0-2)	(1-3)	(2-3)	(0-2)	(0-1)	(0)	(0-2)	(0-2)	(0)	(0-1)	(0)	(0)

AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo; Mn: infiltrado mononuclear; Nt: neutrófilo; E/M: eosinófilo/mastócito; 0 = nenhum, 1 = discreto, 2 = moderado, 3 = intenso (*: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Tabela 11. Classificação do edema intersticial pulmonar, colapso alveolar e congestão nos diferentes lobos pulmonares (mediana, limite superior e inferior). São Paulo, 2009.

Grupos	Lobos Pulmonares				
	AD	AE	DD	DE	Acessório
Edema Pulmonar Intersticial					
Controle	1(0-1)	0(0-1)	0(0)	1(0-1)	0(0)
HNA+Amido	2(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	2(1-2)	0(0)
HNA+NaCl	3(2-3)***	2(1-3)*	2(2-3)***	3(1-3)**	1(0-1)
HNA+Gel	2(1-2)	3(2-3)***	2(1-2)*	2(1-3)	1(0-1)
Colapso Alveolar	AD	AE	DD	DE	Acessório
Controle	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
HNA+Amido	1(1-2)	1(1-2)	1(0-1)#	2(1-2)	0(0)###
HNA+NaCl	3(2-3)***	1(1-3)*	2(2-3)***	3(1-3)***	1(1-2)***
HNA+Gel	2(1-2)*	3(2-3)***	2(1-2)*	2(1-3)*	0(0)###
Congestão	AD	AE	DD	DE	Acessório
Controle	0(0)	0(0)	1(0-1)	1(0-1)	0(0)
HNA+Amido	1(0-2)	1(1-2)	1(1-2)	1(1-2)	1(0-1)
HNA+NaCl	1(1-2)**	1(1-3)*	1(1-2)	2(1-3)*	1(0-1)
HNA+Gel	1(1-2)**	3(1-3)***	1(1-2)	2(1-3)*	1(0-1)

AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo; 0 = nenhum, 1 = discreto, 2 = moderado, 3 = intenso (*: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Grupo Controle

O exame microscópico revelou parênquima pulmonar contendo brônquios, bronquíolos e alvéolos com arquitetura típica. Não foi notado edema, congestão ou colapso alveolar importante nos lobos estudados, apenas infiltrado mononuclear discreto em alguns campos (Figura 52).

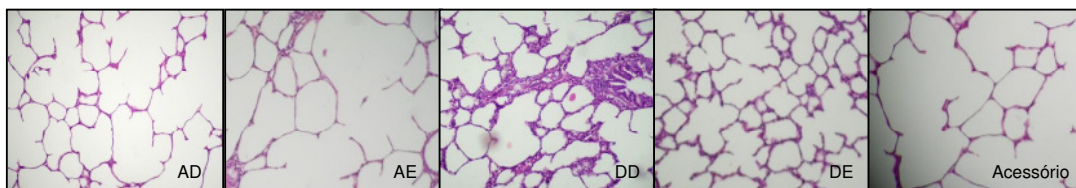


Figura 52. Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo Controle corado por hematoxilina e eosina. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x. São Paulo, 2009.

Grupo HNA + Amido

O exame microscópico mostrou parênquima pulmonar contendo brônquios, bronquíolos e alvéolos com arquitetura típica em todos os corte do pulmão. Foi observado neste grupo um infiltrado inflamatório discreto a moderado, composto basicamente por células mononucleares (Figura 53).

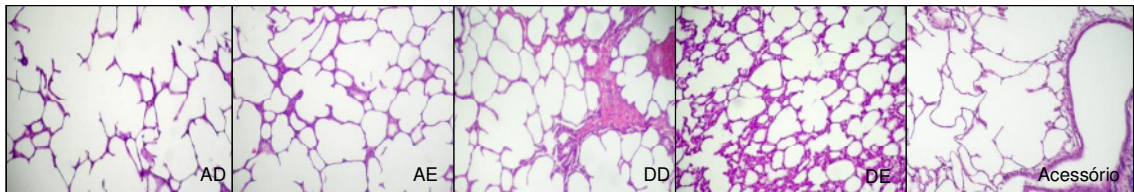


Figura 53. Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo HNA + Amido corado por hematoxilina e eosina. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x. São Paulo, 2009.

Grupo HNA + NaCl

Com relação à histologia pulmonar deste grupo, todos os lobos pulmonares, exceto o acessório, apresentaram escores de edema significativamente mais altos quando comparados ao Controle. Colapso alveolar foi notado em todos os lobos pulmonares, enquanto que a congestão foi observada nos lobos apical direito e esquerdo além do diafragmático esquerdo (Figura 54). Quando o infiltrado inflamatório foi estudado, notou-se um acúmulo moderado a intenso de células mononucleares nos lobos pulmonares, com exceção do lobo acessório (Tabela 9).

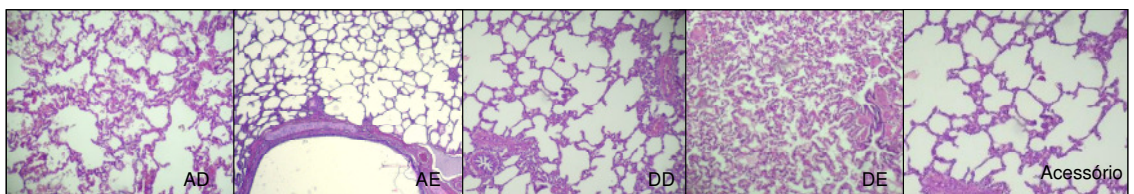


Figura 54. Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo HNA + NaCl corado por hematoxilina e eosina. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x. São Paulo, 2009.

Grupo HNA + Gelatina

Com relação a este grupo (Figura 55), todos os lobos pulmonares, com exceção do acessório, apresentaram colapso alveolar moderado a intenso. Edema pulmonar foi notado apenas nos lobos apical esquerdo e diafragmático direito. Com exceção dos lobos diafragmático direito e acessório, todos os outros apresentaram congestão. Apesar do discreto infiltrado mononuclear neste grupo, observou-se infiltrado de células polimorfonucleares intenso com importante acúmulo de neutrófilos, eosinófilos e mastócitos no lobo apical esquerdo (Figura 56). Apesar destas considerações, os outros lobos pulmonares apresentaram o parênquima com arquitetura típica, sem alterações importantes.

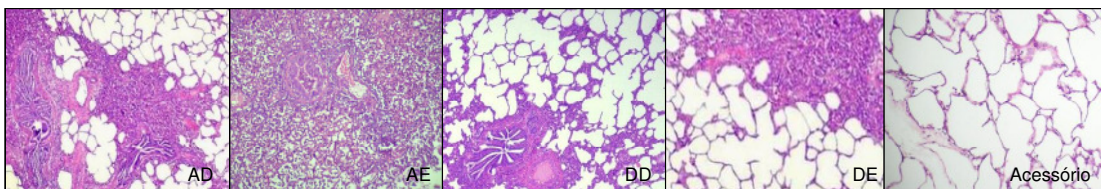


Figura 55. Padrão microscópico dos lobos pulmonares de suínos do grupo HNA + Gelatina corado por hematoxilina e eosina. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x. São Paulo, 2009.

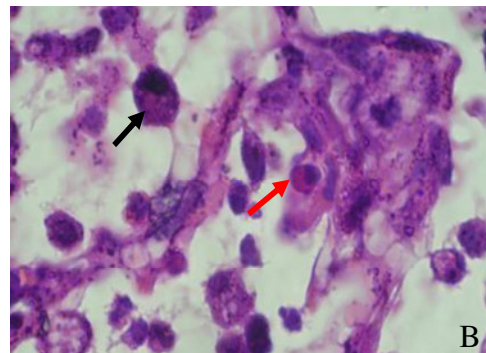
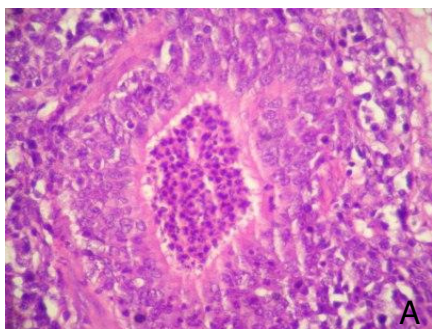


Figura 56. Detalhamento do padrão microscópico do lobo apical esquerdo de suínos do grupo HNA + Gelatina corado por hematoxilina e eosina. A: Infiltrado de polimorfonuclear com congestão, edema e perda do parênquima alveolar. Magnificação 40x. B: Infiltrado de mastócito (seta preta) e eosinófilo (seta vermelha) no lobo apical esquerdo. Magnificação 40x. São Paulo, 2009.

A Figura 57 demonstra a análise histopatológica do lobo apical esquerdo de todos os grupos estudados.

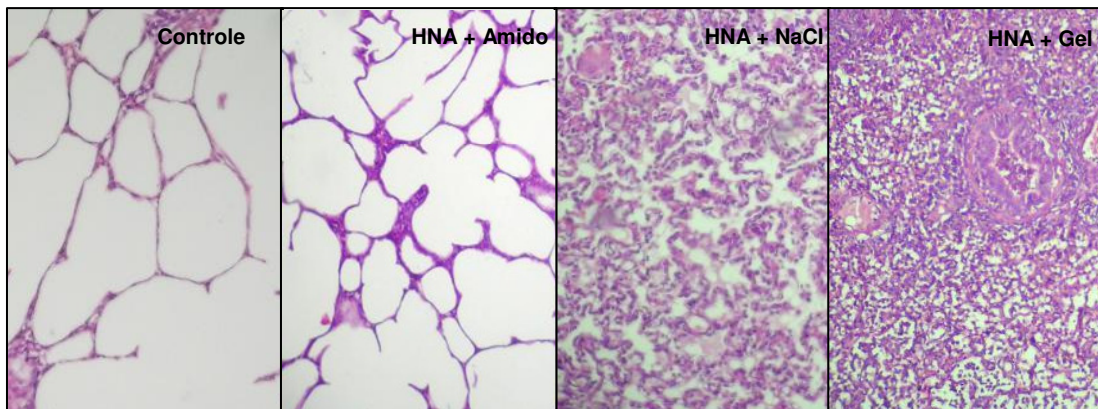


Figura 57. Padrão microscópico do lobo apical esquerdo dos animais do grupo Controle e aqueles submetidos à HNA corado por hematoxilina e eosina. Magnificação 10x. São Paulo, 2009.

Imunoistoquímica

Após a análise histopatológica de todos os cortes, procedeu-se a análise imunoistoquímica dos lobos pulmonares. A expressão da COX-2 e E-selectina estava presente difusamente no citoplasma dos leucócitos e células endoteliais e, ocasionalmente, parte da membrana estava corada, sendo que a COX-2 apresentou variação na expressão dependente do lobo pulmonar analisado para os diferentes grupos de tratamento (tabela 12).

Tabela 12. Classificação da expressão da enzima COX-2 e da molécula de adesão E-selectina nos diferentes lobos pulmonares (mediana, limite superior e inferior). São Paulo, 2009.

Grupos	Lobos Pulmonares				
	AD	AE	DD	DE	Acessório
COX-2					
Controle	0(0)	1(1-2)	1(0-1)	1(0-2)	0(0)
HNA+Amido	1(0-1)	2.5(1-3)	2(2-3)*	2(0-2)	0(0)[#]
HNA+NaCl	2(0-2)**	2(2-5)	3(2-5)***	3(1-3)	1(0-1)*
HNA+Gel	1(0-2)	6(6-7)****	2(2-3)*	1(0-2)	0(0)[#]
E-selectina					
Controle	0(0)	1(0-2)	1(0-2)	1(0-2)	0(0)
HNA+Amido	1(0-1)	2(1-3)	1.5(1-2)	2(1-2)	0(0)^{##}
HNA+NaCl	1.5(0-2)*	2(1-2)	3(0-3)	2(1-3)	1(0-1)*
HNA+Gel	1(0-1)	5.5(5-6)***	2(0-2)	1(0-2)	0(0-1)

AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo; 0 = nenhum, 1 = discreto, 2 = moderado, 3 = intenso (*: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001 diferente do grupo Controle; #: p<0,05; ##: p<0,01; ###: p<0,001 diferente do grupo HNA + NaCl; §: p<0,05; §§: p<0,01; §§§: p<0,001 diferente do grupo HNA + GEL).

Grupo Controle

Os animais do grupo Controle apresentaram fraca expressão tanto da enzima Ciclooxigenase-2 nos neutrófilos e macrófagos pulmonares, quanto da molécula de adesão E-selectina no endotélio pulmonar (Figuras 58 e 59).

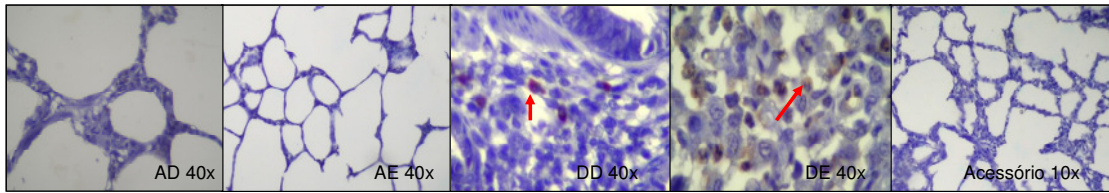


Figura 58: Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de suínos do grupo controle. As setas mostram a imunoreação positiva no citoplasma dos leucócitos. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

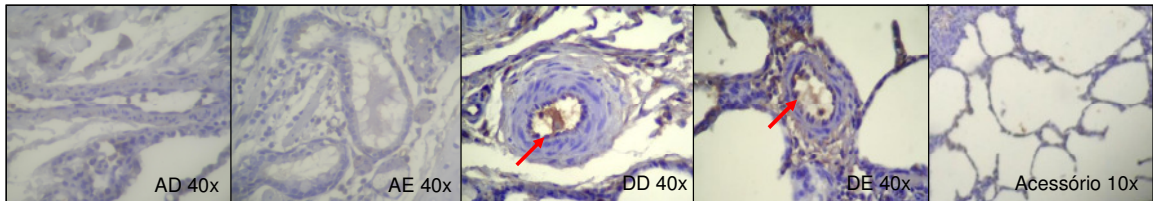


Figura 59: Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais pulmonares de suínos do grupo controle. As setas mostram a imunoreação positiva na membrana das células endoteliais. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

Grupo HNA + Amido

Apenas o lobo diafragmático direito apresentou uma expressão percentual mediana significativamente maior para a enzima COX-2 em relação ao grupo Controle. Os demais lobos e a expressão da E-selectina não foi relevante neste grupo (Figuras 60 e 61).

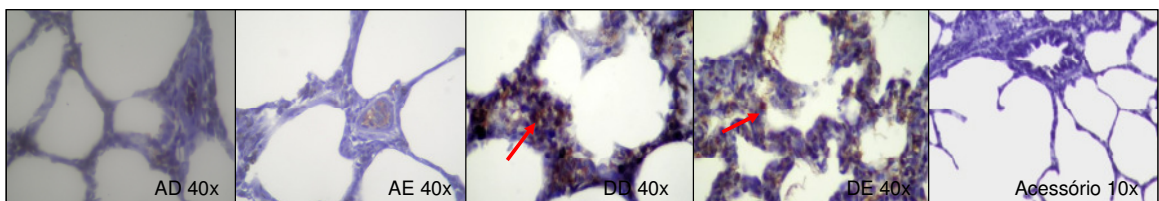


Figura 60: Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de suínos do grupo HNA + Amido. As setas mostram a imunoreação positiva no citoplasma dos leucócitos. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

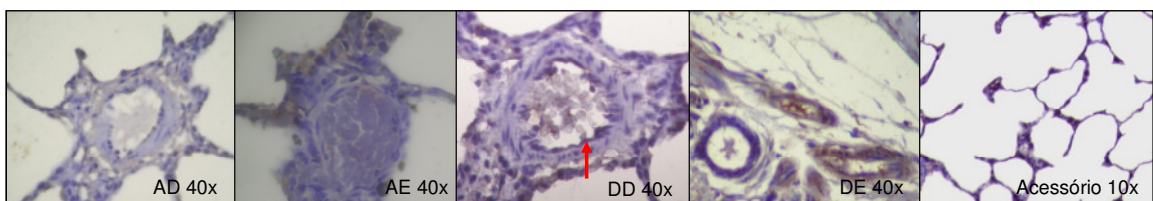


Figura 61: Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais pulmonares de suínos do grupo HNA + Amido. As setas mostram a imunoreação positiva na membrana das células endoteliais. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

Grupo HNA + NaCl

Neste grupo, os lobos apical e diafragmático direitos, além do acessório apresentaram uma expressão percentual mediana significativamente maior para a enzima COX-2 quando comparado ao grupo Controle. Com relação a E-selectina, o lobo apical direito e acessório demonstraram uma expressão mais forte em relação ao Controle (Figura 62 e 63).

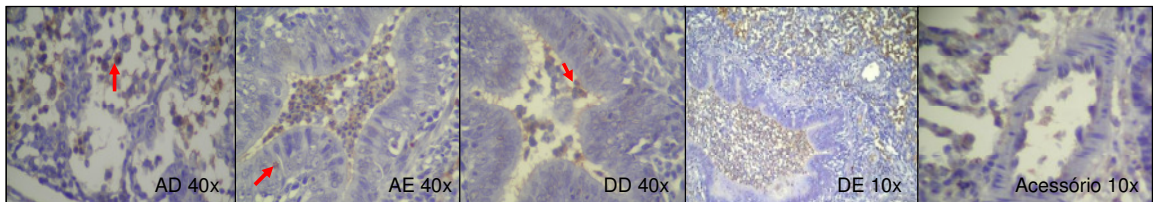


Figura 62: Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de suínos do grupo HNA + NaCl. A seta mostra a imunoreação positiva no citoplasma dos leucócitos. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

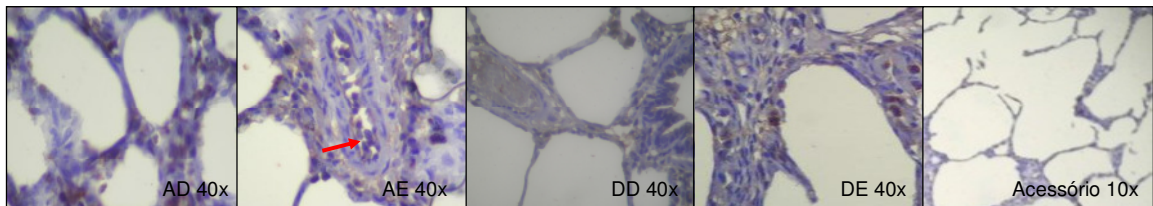


Figura 63: Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais pulmonares de suínos do grupo HNA + NaCl. A seta mostra a imunoreação positiva na membrana das células endoteliais. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

Grupo HNA + Gelatina

Os animais tratados com Gelatina apresentaram uma expressão muito forte da enzima COX-2 e da E-selectina no lobo pulmonar apical esquerdo, como demonstram as Figuras 64 e 65.

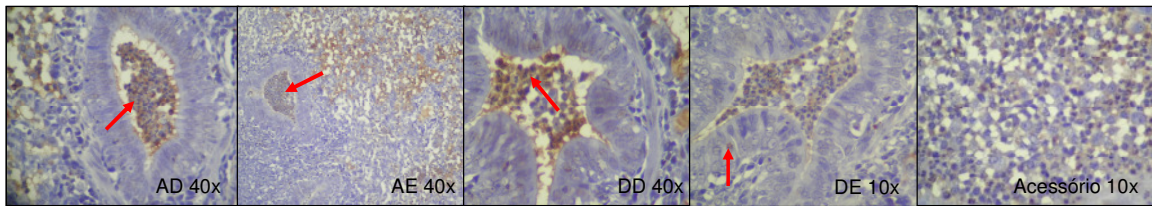


Figura 64: Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de suínos do grupo HNA + Gel. A seta mostra a imunoreação positiva no citoplasma dos leucócitos. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

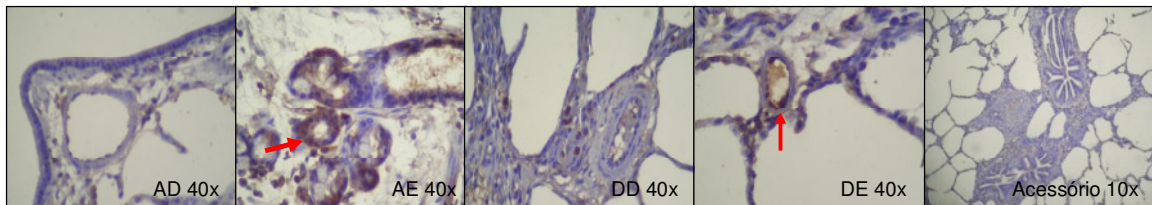


Figura 65: Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais pulmonares de suínos do grupo HNA + Gelatina. A seta mostra a imunoreação positiva na membrana das células endoteliais. AD: Apical Direito; AE: Apical Esquerdo; DD: Diafragmático direito; DE: Diafragmático Esquerdo. Magnificação 10x e 40x. São Paulo, 2009.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Observou-se neste estudo que a hemodiluição realizada tanto com a solução de cloreto de sódio 0,9%, amido hidroxietílico e gelatina fluida modificada, embora respondam hemodinamicamente de maneira semelhante, apresentam diferenças importantes em relação à resposta inflamatória. Os principais resultados desta investigação demonstraram que a gelatina fluida modificada induziu uma resposta inflamatória pronunciada. Esta se traduziu no aumento significativo dos níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6, além do aumento do *burst* oxidativo de neutrófilos e da expressão acentuada da enzima COX-2 e da molécula de expressão E-selectina nas células pulmonares, quando comparado ao grupo Controle, HNA + Amido e HNA + NaCl.

A escolha entre as soluções cristalóides ou colóides tem sido substrato para controvérsias nas situações que requerem a reposição volêmica, tais como a hemodiluição, a ressuscitação volêmica durante o trauma, o choque hemorrágico e o choque séptico. No presente estudo observou-se melhores resultados, no que tange a inflamação, com a utilização tanto da solução de cloreto de sódio 0,9%, quanto do amido hidroxietílico 6% (130/0,4). Uma vez que são necessários três vezes o volume de solução de NaCl 0,9% para promover a mesma expansão plasmática que o amido hidroxietílico e o emprego de grandes volumes desta solução pode favorecer a ocorrência de acidose hiperclorêmica, o colóide em questão torna-se uma alternativa considerável.

Em situações clínicas distintas, a ressuscitação volêmica agressiva é uma ferramenta importante empregada para evitar a diminuição da disponibilidade de oxigênio aos tecidos. Nas circunstâncias com perda sanguínea significativa e reposição volêmica agressiva, a queda do hematócrito pode gerar uma condição de hemodiluição grave. Em estudos prévios, foram investigados os efeitos da hemodiluição no sistema

cardiopulmonar, além das soluções utilizadas durante a HNA. Os colóides mostraram-se superiores aos cristalóides, uma vez que os primeiros não causaram alterações ultra-estruturais nas miofibrilas cardíacas, além de preservar a mecânica pulmonar e manter estáveis as variáveis de oxigenação (Fantoni *et al.*, 2005; Fraga *et al.*, 2005; Margarido *et al.*, 2007; Otsuki *et al.*; 2007).

Até a presente data, este estudo é a primeira investigação experimental comparando os efeitos da HNA com três diferentes soluções para reposição volêmica (amido hidroxietílico, solução de cloreto de sódio 0,9% e gelatina fluida modificada) e com a avaliação do *burst* oxidativo, interleucinas e expressão de COX-2 e E-selectina no tecido pulmonar.

As diferenças nos protocolos dos estudos certamente contribuem para resultados divergentes encontrados na literatura. Muitas pesquisas são realizadas em modelos animais de hemorragia ou choque séptico enquanto outras são desenvolvidas com pacientes saudáveis ou em momentos diferentes da evolução do choque séptico. Além deste fato, observam-se divergências em relação aos kits utilizados para dosar os níveis de citocinas, limites de detecção, reagentes empregados, grande variação da técnica em laboratório para dosar os mediadores inflamatórios entre outras particularidades de metodologias que definitivamente podem exercer um papel fundamental nos resultados finais. Para polemizar o assunto, valores basais disponíveis na literatura variam drasticamente de um estudo para outro, dificultando as comparações entre os resultados. Por exemplo, Chen *et al.* (2005) relataram valores basais de IL-1 e IL-10 similares aos observados neste estudo, enquanto Myers *et al.* (2003) e Oda *et al.* (2002) demonstram diferentes níveis basais de IL-10 e IL-1, respectivamente.

O tipo de estímulo ou a condição do paciente, o qual pode disparar a cascata inflamatória, também pode produzir resultados divergentes relativos à inflamação,

quando diferentes soluções são empregadas para reposição volêmica. Em modelo de choque hemorrágico em ratos, quando a gelatina fluida modificada (GEL) foi comparada ao amido hidroxietílico 6% (HES) e Ringer lactato, observou-se aumento significativo da IL-6 no grupo de GEL alcançando valores ao redor de 4000 pg/ml (Lee *et al.*, 2005). Na presente investigação, a IL-6 alcançou um máximo de 365 pg/ml no grupo HNA + NaCl e 331 pg/ml no grupo HNA + GEL sessenta minutos após a hemodiluição. Entretanto, em modelo de choque endotóxico produzido pela bactéria *E. coli* em suínos (Nielsen *et al.*, 2007), a IL-6 alcançou níveis de 3000 pg/ml, 210 minutos depois da administração da endotoxina.

A Interleucina 6 está descrita na literatura como um marcador da gravidade da lesão (Biffi *et al.*, 1996) e, comparada com outras citocinas, a IL-6 é considerada como o mais confiável preditor de resultados (DeLong, Born, 2004), ou seja, quanto mais alta a IL-6, pior o prognóstico do paciente (Loisa *et al.*, 2003). Além disso, níveis circulantes de IL-6 aumentados podem refletir o desenvolvimento de complicações sépticas após trauma ou importante perda de sangue (Martin *et al.*, 1997). Ao contrário da IL-1 β , a IL-6 está significativamente aumentada na maioria dos pacientes sépticos, sustentada por um tempo maior e refletindo a intensidade do processo inflamatório (Loisa *et al.*, 2003).

Apesar da IL-6 ser o principal indutor da síntese de proteína C-reativa no hepatócito, com subsequente atração de neutrófilos para o sítio de infecção (Cunneen, Cartwright, 2004), esta citocina também pode promover efeitos anti-inflamatórios, inibindo a IL-1 e TNF, além de estimular a síntese de IL-1Ra (Borish, Steinke, 2003). Por estas razões, a IL-6 é considerada tanto inflamatória, quanto anti-inflamatória (Dinarello, 1996; Xing *et al.*, 1998; Loisa *et al.*, 2003; Abbas, Lichtman, 2005). No presente estudo foi observado um aumento da IL-6 nos grupos HNA + NaCl e HNA +

Gel, sendo que apenas neste último a elevação foi sustentada ao longo do experimento depois do procedimento de HNA. Este resultado coincidiu com os valores de TNF obtidos neste grupo durante o experimento, reafirmando a função regulatória da IL-6.

As diferenças observadas entre os resultados disponíveis neste estudo e na literatura, podem ser explicadas pelo impacto dos diferentes estímulos nas células, resultando na discrepância observada. No modelo de HNA, quando a hemodinâmica é mantida de maneira estável e, teoricamente, o fluxo na microcirculação é preservado, não existiria uma razão considerável para a ativação significativa de células e produção de citocinas.

O TNF- α é o primeiro mediador inflamatório produzido frente a um estímulo, considerado um mediador do sistema imune inato e crucial para induzir proteção local (Ulloa, Tracey, 2005). Quantidades mínimas de TNF- α contribuem para a defesa do hospedeiro por limitar a propagação de organismos patogênicos para a circulação sanguínea, fato observado durante a resposta inflamatória típica, na qual a liberação e magnitude da produção de TNF- α são limitadas (Tracey, 2002; Ulloa, Tracey, 2005). No entanto, quando a produção de TNF- α é excessiva e prolongada, torna-se deletéria para o organismo (Netea *et al.*, 2003), uma vez que supera a regulação normal da resposta imune, induzindo a ativação de outras citocinas, do óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio, os quais promovem inflamação e lesão tecidual potencialmente letal (Tracey, 2002, Ulloa, Tracey, 2005).

No que alude ao TNF- α , o grupo HNA + GEL apresentou o maior valor (323 pg/ml) 60 minutos após a HNA, diferindo estatisticamente do grupo Controle. Lee *et al.* (2005) demonstraram valores em torno de 500 pg/ml no grupo tratado com gelatina sessenta minutos após a ressuscitação volêmica. Em modelo de choque endotóxico, o TNF- α chegou a 30.000 pg/ml, 90 minutos depois da administração da endotoxina no

grupo estimulado com LPS e tratado com proteína C-ativada (Nielsen *et al.*, 2007). Feng *et al.* (2007) em um modelo de sepse em ratos demonstraram valores similares de TNF- α no grupo sepse o qual recebeu HES (130/0,4) quando comparados aos valores observados no grupo HNA + Amido nesta investigação. Após a exposição ao LPS, o nível sérico de TNF eleva-se durante os primeiros 30 a 90 minutos, apresentando pico entre 3 a 4 horas (Cohen, 2002; Cunneen, Cartwright, 2004). No presente estudo, foram observados valores máximos de TNF 60 minutos após o final da hemodiluição, com uma tendência a diminuição em todos os grupos, com exceção do HNA + GEL, onde os níveis desta citocina permaneceram altos até o final do experimento.

A interleucina 1 β apresenta efeitos análogos ao TNF- α , inclusive recrutamento de neutrófilos, estimulação da liberação de quimiocinas e da expressão de moléculas de adesão (Ishida *et al.*, 2006) agindo sinergicamente com o TNF- α durante a resposta inflamatória (Dinarello, 2000; Del Vecchio *et al.*, 2004). Como mediador inflamatório, a IL-1 β pode apresentar uma rápida elevação, enquanto em outros casos, sua produção é lenta (Dinarello, Wolff, 1993). Em situações de sepse, observam-se resultados contraditórios, em alguns pacientes os níveis séricos de IL-1 β podem ser indetectáveis, demonstrando pouca correlação com a gravidade da doença (Loisa *et al.*, 2003), enquanto em outros pacientes com sepse são observados níveis elevados, apresentando correlação significativa com a gravidade do quadro séptico (Casey, 2000).

No que se relaciona a IL-1 β neste estudo, um aumento significativo foi verificado no grupo HNA + GEL (224 \pm 56 pg/ml) sessenta minutos após o final da hemodiluição. Chen *et al.* (2005) estudando os efeitos da hipotermia em modelo de hemorragia letal em suínos encontraram valores basais semelhantes de IL-1 (200 pg/ml). Oda *et al.* (2002) observaram níveis análogos (150-200 pg/ml) de IL-1 depois do choque hemorrágico em suínos e, esta resposta foi acentuada (1600 pg/ml) quando a síndrome

compartimental abdominal foi associada. Em outro estudo, o desafio com o LPS não alterou os níveis (218 pg/ml) de IL-1 (Myers *et al.*, 2003). Os valores de IL-1 notados no estudo em tela estão em acordo com Feng *et al.* (2007), o qual demonstrou valores compatíveis de IL-1 durante a sepse em ratos tratados com diferentes volumes de HES (130/0,4), concluindo que o amido hidroxi-etílico poderia diminuir os mediadores inflamatórios e modular a resposta inflamatória, enquanto que a gelatina fluida modificada promoveu resultados opostos. Após o aumento de IL-1 β no grupo HNA + GEL, houve diminuição progressiva desta ao longo do tempo. A razão desta redução pode ser explicada pelo estímulo de pouca magnitude da hemodiluição e pela síntese do antagonista de receptor da IL-1 (IL-1Ra) (Loisa *et al.*, 2003).

Provavelmente, a liberação da IL-1Ra diminuiu os níveis circulantes da IL-1 β aos 120 minutos após a hemodiluição, uma vez que concomitante ao estímulo da produção da IL-1 β , ocorre o estímulo da síntese de IL-1Ra, sendo este um inibidor natural da IL-1, com estrutura homóloga e apresentando-se biologicamente inativo, este antagonista liga-se ao receptor da IL-1, inibindo a ligação desta interleucina por mecanismo competitivo (Abbas, Lichtman, 2005).

A interleucina-10 atua como citocina anti-inflamatória, inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias (Casey, 2000). A IL-10 pode diminuir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, suprimir as funções das células do sistema imune, além de possuir importante papel na regulação da resposta inflamatória inicial (Schneider *et al.*, 2004). A supressão da IL-10 resulta em aumento dos níveis séricos circulantes de TNF e IL-6 sugerindo que esta citocina tem um importante poder anti-inflamatório (Cunneen, Cartwright, 2004).

Neste estudo, os valores de IL-10 obtidos foram muito baixos ao longo do período de observação embora um aumento significativo nos grupos HNA + Gel e HNA + NaCl

foram verificados 60 minutos depois da HNA com valores médios de 59 ± 11 pg/ml, valor que pode ser considerado normal para esta citocina nas medidas basais (Chen *et al.*, 2005; Nielsen *et al.*, 2007; Malkevich *et al.*, 2008). No estudo de Lee *et al.* (2005) observou-se níveis de IL-10 em torno de 250 pg/ml no final da ressuscitação com gelatina e no grupo Sham. Uma diminuição significativa nos níveis circulantes de IL-10 foram observados 210, 270 e 330 min depois do choque hemorrágico, quando o grupo que foi submetido à reposição volêmica com gelatina foi comparado ao HES, Ringer lactato e grupo Sham. Myers *et al.* (2003) em um modelo de choque endotoxêmico em suínos (*Escherichia coli*) demonstrou valores compatíveis com Lee *et al.* (2005) 3 horas após a infusão de LPS.

Zhang *et al.* (2003) estudou a resposta inflamatória da ressuscitação volêmica com 5 ou 25% albumina e Ringer lactato em um modelo de choque hemorrágico e choque séptico em ratos. Os animais tratados com albumina mostraram níveis significativamente menores de TNF- α , IL-6 e proteína inflamatória de macrófagos-2, além de valores significativamente maiores de IL-10 no grupo submetido ao choque hemorrágico. Estes efeitos anti-inflamatórios da albumina não foram verificados no grupo submetido ao choque séptico. A diminuição da produção de citocina foi associada com uma redução da formação de peróxido de hidrogênio no grupo albumina.

A magnitude da resposta da IL-10 parece correlacionar-se com o processo inflamatório e a concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α . Enquanto o TNF- α estimula a síntese de IL-10, na presença do estímulo da inflamação, a IL-10, por sua vez, bloqueia a síntese de TNF- α na medida da resolução do processo inflamatório levando a normalização dos níveis séricos das citocinas (Borish, Steinke, 2003). Na presente investigação foi verificado um aumento concomitante da IL-10 quando o TNF- α apresentou os valores mais altos nos grupos HNA + NaCl e HNA +

GEL. Possivelmente, a elevação da citocina anti-inflamatória reflete o aumento do TNF- α e a diminuição deste após o pico de concentração plasmática pode ser resultado do aumento da IL-10.

Em contraste com o amido hidroxietílico, poucos estudos foram, até a presente data, conduzidos com a gelatina fluida modificada e mensuração de citocinas (Boldt, 2006). Não obstante parece claro que, o fator ativador, como por exemplo, endotoxinas ou hemorragia desempenham um papel significativo na magnitude da resposta observada. Outro aspecto a ser considerado é que as citocinas respondem de uma maneira diferente frente aos estímulos. Dependendo do tempo observacional do estudo, estas interleucinas podem não serem detectadas no plasma, ou mesmo, o pico de concentração plasmático pode não ser alcançado, mesmo com um estímulo respeitável. Talvez, essa seja uma explicação plausível para os baixos níveis circulantes de IL-10 observados nesta investigação. Esta citocina anti-inflamatória apresenta liberação tardia quando comparada ao TNF- α e IL-1. Após a incitação da IL-10, o pico de concentração plasmática pode ser alcançado depois de 4 horas, fato não ocorrido neste trabalho, uma vez que o período de observação foi de 4 horas após a HNA (Lang *et al.*, 2003).

O uso de fluidoterapia agressiva durante este experimento pode ter diluído os níveis circulantes de citocina, influenciando as medidas das mesmas. Na tentativa de evitar esta limitação, procedeu-se a dosagem da uréia plasmática nos mesmos momentos que as interleucinas e, foi observado diminuição nos níveis no grupo HNA + Amido (2,83%), HNA + NaCl (29,25) e HNA + GEL (8,88%) imediatamente após a hemodiluição quando comparado com TINST. Em decorrência da alta taxa de fluidoterapia utilizada durante a hemodiluição, cerca de 50 ml/Kg/30 minutos no grupo dos colóides e 150 ml/Kg/30 minutos de HNA no grupo cristalóide, este é um fator importante a ser considerado ao analisar os resultados das citocinas, apesar de outros

trabalhos existentes na literatura não mencionarem este evento, mesmo em estudos clínicos (Boldt *et al.*, 2004; Boldt *et al.*, 2008).

Embora o tipo de estímulo influencie a resposta inflamatória, o impacto das soluções utilizadas para a reposição volêmica parece ser de suma importância. Nos estudos citados e, corroborando com nossos resultados, a reposição volêmica com gelatina induziu um efeito mais pronunciado nos mediadores inflamatórios quando comparado às outras soluções. Verificou-se que os animais tratados com a gelatina apresentaram níveis maiores de todas as citocinas em diferentes momentos quando comparado ao grupo Controle. No grupo HNA + Amido, apenas o TNF- α foi significativamente maior 60 minutos após o final da HNA. Em estudos clínicos realizados com pacientes os resultados são muito similares. Boldt *et al.* (2004) demonstrou que os níveis de IL-6 e IL-8 de pacientes submetidos a cirurgias abdominais foram atenuados quando o HES foi utilizado, enquanto pacientes tratados com Ringer lactato ou solução de cloreto de sódio 0,9% apresentaram níveis significativamente mais altos destas citocinas imediatamente após o término do procedimento cirúrgico, 5 e 24 horas depois do final da cirurgia. Em um estudo recente em pacientes idosos submetidos à cirurgia cardíaca, os valores de IL-6, IL-10 e da molécula de adesão solúvel ICAM-1 foi estatisticamente maior 5 horas, 24 hs e 48 hs após o final da cirurgia no grupo de pacientes tratados com gelatina comparado ao grupo HES (130:0,4) (Boldt *et al.*, 2008).

Lang *et al.* (2003) estudaram os efeitos do Ringer lactato e HES em pacientes submetidos à cirurgia abdominal e observaram as citocinas aumentadas em ambos os grupos. Todavia, os pacientes tratados com HES demonstraram níveis circulantes significativamente menores de IL-6, IL-8 e ICAM-1 solúvel no primeiro dia de pós-operatório com relação àqueles tratados com Ringer lactato. Em um estudo clínico sobre a utilização de hemodiluição normovolêmica aguda em Reparo de Aneurisma

Aórtico Abdominal, observou-se uma grande variação nas respostas individuais de IL-6 sérica, alcançando o pico plasmático com 6 horas de procedimento cirúrgico. Uma explicação para este fato são as diferenças na magnitude do estímulo cirúrgico como também a responsividade do sistema imunológico do paciente (Wolowczyk *et al.*, 2005).

Apesar dos resultados conflitantes relacionados na literatura, a ativação neutrofílica também pode ser influenciada pelo tipo de solução para reposição volêmica utilizada. Neutrófilos ativados produzem uma série de espécies reativas de oxigênio (EROs), fundamentais para a fagocitose de patógenos. Recentemente foi evidenciado que os EROs podem agir como via de sinalização em condições fisiológicas e fisiopatológicas. Apesar de mostrarem-se fatores essenciais no metabolismo normal, os EROs são potencialmente tóxicos, uma vez que a liberação massiva de radicais livres de oxigênio pode induzir lesão e morte celular (Magder, 2006). Deste modo, o aumento da fagocitose e da liberação de radicais livre de oxigênio pode indicar um estado de ativação neutrofílica aumentado.

Na presente investigação, a hemodiluição normovolêmica aguda induziu ativação de neutrófilos, independente do tipo de fluidoterapia utilizada. Por outro lado, a infusão do sangue previamente coletado não resultou em ativação neutrofílica adicional, concordando com a literatura especializada (Rhee *et al.*, 1998; Alam *et al.*, 2000; Alam *et al.*, 2004). O sangue fresco total é um fluido complexo que contém células com capacidade anti-oxidante (glóbulos vermelhos) e uma significativa habilidade tampão. Assim como o sangue é um cenário natural para as células circulantes, é possível que a infusão do sangue previamente coletado, não tenha se mostrado como um fator estimulante para os neutrófilos. Os neutrófilos são células fundamentais para a resposta inflamatória adequada frente a diversos estímulos. Dependendo da magnitude desta

resposta e do tempo, as conseqüências podem ser benéficas ou prejudiciais para o paciente (Martins *et al.*, 2003). Muller Kobold *et al.* (2000) demonstraram que o prognóstico reservado é diretamente relacionado à grande ativação de neutrófilos e monócitos. Provavelmente existe uma forte correlação entre a magnitude de ativação neutrofílica e a gravidade e prognóstico da doença (Springer, 1994; Carlos, Harlan, 1994; Salvemini, Cuzzocrea, 2002; Martins *et al.*, 2003).

Vários autores demonstram aumento da atividade de neutrófilos em pacientes com sepse ou choque séptico quando comparados a voluntários saudáveis (Wenisch *et al.*, 1999; Muller Kobold *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2003; Martins *et al.*, 2008). Martins *et al.* (2008) recentemente observaram que o *burst* oxidativo de neutrófilos e monócitos estavam aumentados em pacientes sépticos comparados com o grupo controle no momento basal e após a estimulação com PMA, N-formilmetionil-leucil-fenilalanina (fMLP), lipopolissacarídeo (*Salmonella abortus equi*) e *Staphylococcus aureus*. Embora o *burst* oxidativo de pacientes com sepse foi tão alto quanto em pacientes com choque séptico, a liberação de radicais livres de oxigênio em pacientes os quais apresentavam pontuações de SOFA (Sequential Organ Failure Assessment-score) maior que 7 foi mais alta que em pacientes com SOFA menor que 7, tanto pelos neutrófilos, quanto pelos monócitos. Este foi um importante resultado uma vez que a pontuação de SOFA de 7 discriminou pacientes sobreviventes dos não sobreviventes.

Em um experimento *in vitro*, utilizando sangue de voluntários saudáveis diluído com cristalóides (Ringer lactato e solução de cloreto de sódio 0,9%) e colóides (dextran 40, Hespan 6% e albumina) observou-se a ativação neutrofílica com os diferentes tipos de fluido. Um aumento significativo na expressão de adesão neutrofílica (CD18) foi notado com o uso de colóides ($p < 0,05$) e em menor extensão com os cristalóides, sendo que a albumina 25% não propiciou o aumento de CD18 (Rhee *et al.*, 2000).

Alam *et al.* (2004) verificaram que tanto o Dextran, quanto o HES (200/0.5) proporcionou um efeito pronunciado na ativação neutrofílica e liberação de radicais livres de oxigênio durante o choque hemorrágico, aumentando o *burst* oxidativo em 600% e 400%, respectivamente, em relação ao *burst* basal. O Ringer lactato (300%) e a albumina 25% (200%) também estimularam o *burst* oxidativo. Estes resultados relacionados ao *burst* oxidativo estão de acordo com os achados do presente estudo, uma vez que o grupo HNA + Amido promoveu uma liberação de radicais livres ligeiramente maior que o grupo HNA + NaCl. Por outro lado, Jaeger *et al.* (2001) demonstrou, em um estudo *in vitro*, que a gelatina e várias preparações de HES 6% (70/0,5; 200/0,5 e 450/0,7) não influenciaram o *burst* oxidativo de neutrófilos advindos de pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos urológicos.

Outros autores observaram em um estudo *in vitro*, com a utilização de sangue de voluntários saudáveis, que a gelatina aumentou significativamente a expressão dos receptores do complemento (CD11b/CD18), além do *burst* oxidativo. Por outro lado, Dextran (40 e 60) e HES (6% e 10%), quando testados *in vitro*, não influenciaram a fagocitose e a ativação neutrofílica (Welters *et al.*, 2000).

A infusão de 7 ml/Kg durante 30 minutos de albumina humana, gelatina 4%, amido hidroxietílico (200/0,5) ou solução de Ringer simples em pacientes ASA I não proporcionou diferenças significativas na expressão dos receptores do complemento CR1 (CD35), CR3 (CD11b/CD18) e no receptor de L-selectina (CD62L) na superfície dos polimorfonucleares (Engel *et al.*, 2001). Por outro lado, Jaeger *et al.* (2000) demonstraram em um estudo *in vivo*, em pacientes submetidos a cirurgias urológicas, que a administração de diferentes preparações de HES (HES 70/0.5; HES 200/0.5; HES 450/0.7) não foi associado a efeitos negativos em relação à atividade fagocitária dos polimorfonucleares, enquanto que a gelatina resultou em diminuição da capacidade de

fagocitose de neutrófilos e monócitos. Como demonstrado, a literatura apresenta diversos resultados em relação à ativação neutrofílica e produção de espécies reativas de oxigênio, dificultando a escolha da fluidoterapia, principalmente, quando a inflamação é avaliada por um parâmetro isolado.

O choque hemorrágico induzido pelo trauma frequentemente origina a lesão pulmonar que está possivelmente associada ao edema pulmonar devido ao aumento da permeabilidade capilar (Schumacher *et al.*, 2003) e a infiltração de células inflamatórias no interstício e alvéolos pulmonares (Muraio *et al.*, 2003). Um dos mecanismos envolvidos na lesão pulmonar induzida pela hemorragia inclui a resposta inflamatória pulmonar com o aumento da produção de radicais livres pelas células pulmonares (Di Filippo *et al.*, 2006). Na presente investigação, a geração espontânea e estimulada de radicais livres de oxigênio no lavado broncoalveolar foi significativamente mais alta no grupo HNA + GEL quando comparado aos outros grupos. A realização do *sorting* celular no citômetro de fluxo e subsequente análise citológica permitiram a classificação das populações celulares encontradas no BALF em células monocíticas e macrófagos.

Macrófagos alveolares pulmonares assim como neutrófilos e monócitos recrutados para o pulmão constituem uma importante linha de defesa contra infecção bacteriana. Estes leucócitos fagocitam as bactérias opsonizadas pelos anticorpos ou por fatores do complemento, eliminando-as pela exposição aos radicais livres de oxigênio (Christensen *et al.*, 1999; Witko-Sarsat *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2000) Manoir *et al.* (2002) verificaram a função dos neutrófilos e macrófagos alveolares e demonstraram que o *burst* oxidativo destas células é significativamente menor em suínos jovens do que idosos, fato que implicaria na maior susceptibilidade dos primeiros à pneumonia de origem bacteriana. Esta condição poderia explicar a baixa magnitude do *burst* oxidativo das células pulmonares. Por outro lado, a produção excessiva de oxidantes pode

resultar em lesão tecidual, sendo que os radicais livres de oxigênio estão associados a doenças pulmonares como a Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto (SARA) e fibrose pulmonar (Maier, 1993; Schraufstaetter, Cochrane, 1997).

O *burst* oxidativo ocorre na célula inflamatória como resultado de uma ação catalítica da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPoxidase). Neste processo, o ânion superóxido é produzido e convertido rapidamente em peróxido de hidrogênio, ácido hipoclorídrico e radical hidroxil, além de outras espécies tóxicas denominadas conjuntamente de espécies reativas de oxigênio (Chabot *et al.*, 1998). Estes são considerados os mais importantes oxidantes biologicamente ativos e responsáveis pelos danos tanto aos microorganismos, quanto aos tecidos. Primariamente, a principal fonte de produção de radicais livres no pulmão saudável são os macrófagos alveolares, sendo que em situações de inflamação, os neutrófilos e monócitos recrutados do sangue para o pulmão exerçam uma importante ação oxidante (Haugen *et al.*, 1999). Em adição ao aumento do influxo de leucócitos do sangue para o pulmão, podem ocorrer mudanças na maturidade dos macrófagos alveolares como mudanças no tamanho da célula, densidade e propriedades funcionais (Calhoun *et al.*, 1992; Kuo, Yu, 1993).

A população inflamatória predominante no pulmão varia de acordo com o caráter da doença (Haugen *et al.*, 1999). Conseqüentemente, o *burst* oxidativo das células pulmonares pode não apenas depender do estado de ativação celular, mas também da composição das células inflamatórias e a habilidade destas células em produzir espécies reativas de oxigênio. A literatura apresenta resultados conflitantes no que diz respeito à produção de EROS por macrófagos alveolares e monócitos. Alguns autores observaram produção similar de EROS por macrófagos alveolares e monócitos (Kienast *et al.*, 1994^a, Kienast *et al.*, 1994^b) enquanto outros demonstraram uma maior capacidade

oxidante quando os macrófagos alveolares foram estudados em comparação aos monócitos (Kemmerich *et al.*, 1987). Este último resultado está em acordância com a presente investigação, uma vez que o *burst* oxidativo das células monocíticas pulmonares foi de pequena magnitude, enquanto o *burst* de macrófagos alveolares foi bem superior. Haugen *et al.*, 1999 observou que os macrófagos alveolares, os quais se apresentavam como células maiores na análise da citometria de fluxo, produziram uma maior quantidade de EROs quando o DCFH foi testado. Quando o PMA foi testado no BALF proveniente de indivíduos saudáveis, os autores verificaram um modesto aumento na produção de EROs, concordando com os achados do grupo Controle, HNA + Amido e HNA + NaCl no presente estudo.

Os monócitos são células do sistema fagocítico mononuclear as quais respondem ativamente frente ao estímulo inflamatório com a liberação de mediadores como o TNF- α . Em geral, assume-se que os monócitos circulantes contribuem para o aumento dos níveis plasmáticos desta citocina durante a endotoxemia, mas a maior parte do TNF- α plasmático em resposta ao LPS é liberado pelos macrófagos teciduais, particularmente as células de Kupffer (Luster *et al.*, 1994). Os monócitos ativados migram para os tecidos, nos locais de dano endotelial e, regulam localmente a inflamação crônica. O'Dea *et al.* (2005) demonstraram que os monócitos são rapidamente seqüestrados para a circulação pulmonar em resposta a endotoxemia aguda e, uma vez no pulmão, estas células produzem TNF- α mediado pelas moléculas de adesão celular nas células do endotélio pulmonar, sugerindo que os monócitos, através da ativação direta e precoce de células endoteliais, têm função essencial na sinalização inflamatória dentro da microvasculatura pulmonar na endotoxemia.

No presente estudo, foi observado no citograma do BALF uma população bem delimitada de células monocíticas apresentando considerável *burst* oxidativo

espontâneo (DCFH). Quando o PMA foi testado nestas células, a produção de espécies reativas de oxigênio foi pequena, principalmente em relação aos macrófagos alveolares, indicando que as primeiras não estavam ativadas ou mesmo, que o tempo necessário para ativação foi insuficiente, uma vez que o acúmulo e ativação destas células no pulmão não são evidentes antes de 24 horas pós-infusão de LPS segundo Standiford *et al.* (1995) e VanOtteren *et al.* (1995). Certas espécies como ovelhas e suínos possuem macrófagos residentes nos vasos sanguíneos do pulmão, denominados macrófagos intravasculares pulmonares (Warner, 1996). Estes macrófagos, quando aderidos ao endotélio pulmonar, respondem vigorosamente frente ao estímulo, por meio da fagocitose e liberação de mediadores incluindo o TNF- α (Cirelli *et al.* 1995), citocina considerada fundamental na patogênese da lesão pulmonar aguda nestas espécies (Warner *et al.*, 1988). Como os suínos possuem macrófagos residentes pulmonares, os monócitos podem ter um papel secundário nos eventos pulmonares após o estímulo inflamatório.

A IL-8 associada a outros mediadores inflamatórios como o TNF, IL-1 e IL-6 possuem um papel fundamental na patogênese da lesão aguda pulmonar (Walley *et al.*, 1999; Kolb *et al.*, 2001; Kabir *et al.*, 2002; Liaudet *et al.*, 2002), sendo que um dos mecanismos envolvidos pode estar ligado à ativação dos macrófagos intravasculares pulmonares. Com relação a IL-8 mensurada no lavado broncoalveolar, os valores obtidos desta citocina neste estudo foram de baixa magnitude, concordando com aqueles observados no grupo controle em estudo conduzido por Roch *et al.* (2007). Os autores testaram a solução de cloreto de sódio 0,9% e a mistura de solução hipertônica 7.2% associada ao amido hidroxietílico 6% (200/0.5) no choque hemorrágico em suínos, coletando o BALF da mesma maneira realizada no presente estudo e utilizando os mesmos Kits de dosagem de IL-8. A população (75%) do grupo NaCl 0,9% atingiu

valores de IL-8 entre 1500 a 5000 pg/ml, enquanto no grupo cristalóide associado ao colóide, os valores foram próximos de 1000 a 2000 pg/ml.

No presente estudo, os maiores valores obtidos foram verificados no grupo HNA + GEL e, apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre os grupos, a IL-8 por ser uma quimiocina, mais especificamente, uma citocina que atrai neutrófilos para o sítio de inflamação, pode ter contribuído para o maior *burst* oxidativo e o acentuado infiltrado neutrofílico observado neste grupo, como discutido adiante.

A histopatologia do tecido pulmonar revelou intenso infiltrado polimorfonuclear composto de neutrófilos, eosinófilos e mastócitos no parênquima pulmonar, além de forte expressão da enzima Ciclooxigenase-2 e da molécula de expressão E-selectina no grupo HNA + GEL. Estes parâmetros foram observados apenas no lobo apical esquerdo, mas edema, congestão e colapso alveolar foram notados na maioria dos lobos pulmonares neste grupo. O grupo HNA + HES apresentou um discreto infiltrado composto por células mononucleares com parênquima pulmonar preservado. Estes resultados estão de acordo com os observados por Feng *et al.* (2007), os quais demonstraram, em um modelo de sepse induzida por punção e ligadura cecal em ratos, lesão pulmonar caracterizada por colapso alveolar, edema, congestão e infiltração neutrofílica. O grupo tratado com 30 ml/Kg de HES (score de 5) apresentou um score de lesão pulmonar significativamente menor em relação ao grupo tratado com gelatina fluida modificada (score de 9).

Apesar dos resultados obtidos nos animais tratados com a gelatina, os mesmos não apresentaram diminuição da relação PaO_2/FiO_2 , situação diferente daquela observada nos animais hemodiluídos com a solução de NaCl 0,9%. O exame histopatológico neste grupo demonstrou edema, congestão, colapso alveolar e infiltrado mononuclear moderado a intenso na maioria dos lobos pulmonares. A diminuição da

relação PaO_2/FiO_2 ao final do experimento foi similar aos achados de Margarido *et al.* (2007), os quais observaram atelectasia pulmonar no grupo hemodiluído com cristalóide.

No presente estudo, os animais hemodiluídos com solução de NaCl 0,9% e gelatina apresentaram alta pressão de artéria pulmonar ao final do experimento. Provavelmente, as alterações no grupo cristalóide ocorreram em decorrência do aumento da pressão hidrostática acompanhada da diminuição da pressão oncótica ocasionada pela infusão de grande quantidade de fluido não protéico (Rafie *et al.*, 2004).

Os animais tratados com amido hidroxietílico mostraram um padrão de histopatologia semelhante ao grupo Controle. Outros autores demonstraram que este colóide pode reduzir a permeabilidade capilar, a formação de edema (Oz *et al.*, 1995; Allison *et al.*, 1999) e ainda proteger a morfologia celular, evitando, por exemplo, a lesão no miocárdio (Zikria *et al.*, 1990).

O grupo HNA + GEL mostrou um importante infiltrado de neutrófilos no parênquima pulmonar, concordando com o aumento significativo de radicais livres no BALF neste grupo. Outros autores verificaram alterações graves e acúmulo de células inflamatórias como neutrófilos e células mononucleares no tecido pulmonar de ratos submetidos ao choque hemorrágico e tratados com gelatina fluida modificada. Estes resultados foram relacionados ao aumento de citocinas pró-inflamatórias no grupo gelatina (Lee *et al.*, 2005).

A lesão aguda pulmonar é originada a partir de um evento como a sepse ou a hemorragia, com a liberação de mediadores pró-inflamatórios, predominantemente citocinas, iniciando a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) e resultando no recrutamento de neutrófilos para a vasculatura pulmonar (Abraham, 2003). Os

resultados de histologia obtidos no grupo HNA + GEL no presente estudo estão de acordo com os achados de Steinberg *et al.* (2005), o qual verificou significativo recrutamento neutrofílico, congestão da parede alveolar e edema intra-alveolar no pulmão de suínos sépticos. O grupo HNA + GEL da presente investigação demonstrou características semelhantes como edema e infiltrado inflamatório difuso composto por neutrófilos em alvéolos, brônquios e bronquíolos. Estes resultados são de suma importância, uma vez que Steinberg *et al.* (2005) considerou que a promoção da sepse e SARA no pulmão dos suínos com características histopatológicas semelhantes aos encontrados no nosso estudo, são análogos aos resultados patológicos encontrados na sepse e SARA em humanos.

As três selectinas conhecidas, a E, P e L-selectina, são glicoproteínas de estrutura similar que embora apresentem indução diferente, possuem função análoga na aderência leucocitária no endotélio vascular (Carraway *et al.*, 1998). A E-selectina é expressa por células endoteliais em resposta a citocinas como TNF- α e IL-1, ou ainda, frente a estímulos como o LPS e o ésteres de forbol (Kansas, 1996; Demertzis *et al.*, 1999; Vestweber, Blanks, 1999; Navarro *et al.*, 2002; Ishida *et al.*, 2006). Esta molécula da superfície endotelial é um dos mediadores para a interação de polimorfonucleares com o endotélio e para o início do extravasamento e migração destas células (Demertzis *et al.*, 1999). Após a exposição aos mediadores inflamatórios, a E-selectina é induzida dentro de 6 horas na superfície das células endoteliais (Carraway *et al.*, 1998). A migração neutrofílica através da célula endotelial é uma das etapas envolvidas na expressão de moléculas de adesão. As células endoteliais são estimuladas pelas citocinas para sintetizar ELAM-1 e ICAM-1. As moléculas de adesão dos polimorfonucleares e do endotélio são responsáveis por mediar a interação inicial entre os PMNs e o endotélio. O rolling dos PMNs é mediado pela interação da E e P-selectina com a superfície

glicoproteica do neutrófilo (CD15s). Este evento induz uma rápida transição na morfologia e capacidade de adesão dos PMNs, além de estimular a agregação destas células e o *burst* oxidativo com produção de radicais livres de oxigênio. A adesão firme dos neutrófilos com o endotélio acontece por meio das integrinas leucocitárias (CD11b) ligando-se a ICAM-1 para subsequente migração neutrofílica (Demertzis *et al.*, 1999).

Na presente investigação, os resultados obtidos no grupo HNA + GEL relacionados a maior expressão de E-selectina e consequentemente maior influxo de neutrófilos para o pulmão condizem com os resultados observados por Montefort *et al.* (1992), os quais observaram um aumento da expressão da E-selectina e do influxo de leucócitos no endotélio pulmonar de pacientes com processos inflamatórios em vias aéreas.

Em vários estudos a presença de E-selectina no tecido pulmonar está intimamente associada com a ocorrência de doença pulmonar (Southcott *et al.*, 1998, Müller *et al.*, 2002), sendo que níveis altos de E-selectina solúvel podem ser encontrados em uma variedade de condições inflamatórias. Cummings *et al.*, (1997) demonstraram que em pacientes que foram a óbito em decorrência de infecção por bactéria gram-negativa, a investigação imunoistoquímica pulmonar revelou uma grande expressão de E-selectina e VCAM, enquanto que, no tecido pulmonar de pacientes saudáveis, não foram notadas a expressão destas moléculas. Segundo Demertzis *et al.*, (1999), o tratamento com um antagonista de E-selectina resultou na melhora da função pulmonar e menor ativação e extravasamento dos polimorfonucleares.

Em um modelo de choque hemorrágico em ratos, os autores observaram que os grupos que receberam Ringer lactato (81ml/kg) apresentaram expressão significativa de E-selectina e P-selectina RNAmensageiro, mesmo no grupo que não foi submetido a hemorragia mas o qual Ringer lactato foi infundido (Alam *et al.*, 2000). Em um estudo

prévio (Margarido *et al.*, 2007) observaram-se alterações pulmonares associadas ao tipo de reposição volêmica utilizada durante HNA, especialmente no grupo tratado com Ringer lactato.

Na presente investigação observou-se uma forte expressão de E-selectina no grupo HNA + GEL, fato que corrobora com os resultados de citocinas e de produção de radicais livres de oxigênio, consistentemente mais altos neste grupo.

Outra via enzimática implicada no processo inflamatório associada com o choque hemorrágico é a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), essencial na produção de prostaglandinas. Chen *et al.* (2003) demonstraram que as enzimas COX-1 e COX-2 são expressas normalmente no pulmão de suínos saudáveis e que a endotoxina (LPS) aumenta a expressão de COX-2. Estudos demonstraram que o choque hemorrágico resulta em aumento de COX-2 no tecido hepático, renal (Tsukada *et al.*, 2000; McDonald *et al.*, 2001) e pulmonar (Rajnik *et al.*, 2002) em diferentes modelos animais. De acordo com Rajnik *et al.* (2002), os genes que codificam a COX-2 foram relacionados a várias respostas inflamatórias, inclusive em situações de hemorragia. Os autores observaram que estes genes foram intensamente aumentados por 3 h em resposta ao choque hemorrágico, embora o aumento fosse muito mais dramático no fígado do que no pulmão.

Alternativamente, a expressão de COX-2 pode também ser o resultado da produção de citocinas em resposta a diferentes estímulos (Cho, Chae, 2004). Este conceito é sustentado por estudos em que o aumento da expressão de COX-2 foi detectado em neutrófilos e macrófagos alveolares isolados após a estimulação por LPS ou citocinas inflamatórias (Ikeda *et al.*, 1997; Maloney *et al.*, 1998). Esta condição poderia explicar os níveis mais altos de citocinas associado a forte expressão de COX-2 no grupo HNA + GEL. Considerando que o aumento de citocinas pró-inflamatórias

como o TNF- α e IL-1 incitem o aumento de COX-2 pelas células inflamatórias, a forte expressão em células do pulmão dos animais tratados com gelatina poderia estar relacionada a este processo.

Em situações de endotoxemia, ocorre aumento das citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8. Estes mediadores contribuem para as anormalidades vasculares e mudanças no mecanismo broncomotor (Johnston *et al.*, 1998; Hirani *et al.*, 2001). Os eucosinóides possuem importante função na lesão aguda pulmonar mediada pelo LPS. O início para a produção de prostaglandinas e tromboxanos é a conversão do ácido aracdônico para prostaglandina H₂ via ciclooxygenase (Chang *et al.*, 1989; Uhlig *et al.*, 1996; Steudel *et al.*, 1997). Estudos prévios demonstraram que macrófagos frente a um estímulo como o LPS, aumentam a expressão de citocinas pró-inflamatórias e COX-2 via ativação do NF-kB (Ermert *et al.*, 2000; Giroux, Descoteaux, 2000).

Um dos mecanismos envolvidos na expressão de COX-2 pulmonar poderia ser via ativação do NF-kB. Este fator é necessário para a transcrição de citocinas incluindo o TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8 (Blackwell, Christman, 1997; Christman *et al.*, 1998; Sharma *et al.*, 1998; Fan *et al.*, 2001). Além disso, a proteína kinase ativada por mitógenos e a proteína kinase C estão envolvidas na expressão de COX-2 estimulado pelo LPS. Estas vias agem de uma maneira coordenada com muitos fatores de transcrição, entre os quais o NF-kB é o mais importante (Hwang *et al.*, 1997; Inoue, Tanabe, 1998; Giroux, Descoteaux, 2000) e o mais precoce na estimulação dos macrófagos intravasculares pulmonares (MIPs), resultando em aumento da liberação de mediadores inflamatórios (Chen *et al.*, 2003).

Chen *et al.* (2003) observaram, por meio da imunistoquímica, que a expressão de COX-2 nos macrófagos intravasculares pulmonares (MIPs) não foi detectável em macrófagos não-ativados. Quatro horas após o tratamento dos MIPs do pulmão dos

suínos com LPS (10 mg/ml) ocorreu o aumento da expressão de COX-2 no RNAmensageiro, confirmado por PCR-RT e 8 horas após, a expressão de COX-2 foi observada na imunistoquímica. Os autores afirmaram que o aumento de citocinas (TNF- α , IL-1, IL6 e IL-8) seria um dos mecanismos pelo quais os MIPs estão envolvidos na lesão pulmonar aguda ou mesmo na SARA. Os resultados do presente estudo estão em acórdância com estes autores, uma vez que a expressão de COX-2 nos MIPs possui uma função importante no desenvolvimento da resposta inflamatória pulmonar.

A reposição volêmica após o choque hemorrágico é reconhecidamente uma situação onde se observa a isquemia-reperfusão (Waxman, 1996^a). A isquemia tecidual é o principal determinante da extensão da reperfusão, mas a ativação do sistema imune durante a ressuscitação também deve ser considerada (Waxman, 1996^b). Esta resposta desencadeia a ativação da cascata inflamatória, com efeitos nos leucócitos, incluindo os neutrófilos, com a interação do endotélio ativado com os leucócitos resultando na perda da integridade da microcirculação e diminuição da perfusão tecidual. Esta situação está muito bem descrita na literatura e é claramente evidenciada em situações de choque hemorrágico com posterior reposição volêmica.

Quando o escopo do estudo é a hemodiluição normovolêmica aguda, deve-se considerar não apenas o procedimento em si, mas uma condição ampla que é a hemodiluição passiva, situação corriqueira durante os procedimentos cirúrgicos. Independente do tipo de fluidoterapia utilizada, a HNA promoveu ativação neutrofílica. A possível explicação para este fato seria que o volume celular poderia ser o estímulo para as mudanças no metabolismo basal responsável pela síntese protéica, movimento e performance das células. As membranas de células humanas, assim como de animais são altamente permeáveis à água e não toleram mudanças bruscas na pressão

hidrostática. Quando grandes quantidades de fluidoterapia são utilizadas, podem ocorrer desequilíbrios na osmolaridade intracelular e extracelular. Embora o volume celular seja mantido normalmente dentro de um intervalo por mecanismos regulatórios, a função celular pode ser afetada por alterações no meio extracelular e osmolaridade (Lang *et al.*, 1998).

O “inchaço” celular proveniente da ressuscitação volêmica resulta em acidificação do citosol celular, diluição das proteínas celulares e inativação de importantes proteínas quinases com conseqüentes distúrbios na fosforilação, situação fundamental para os mecanismos de sinalização intracelular (Cotton *et al.*, 2006). Os distúrbios no volume celular parecem desregular os inúmeros mecanismos controladores responsáveis por manter a cascata inflamatória sob controle. O “inchaço” celular ativa fosfolipase A2, o qual resulta no aumento de produção de prostaglandinas, lipoxigenases e leucotrienos (Haussinger *et al.*, 1997). O incremento agudo no volume celular resulta no aumento da produção e liberação do TNF- α pelos macrófagos e, como foi explicado, esta citocina tem um importante papel na patogênese da sepse. A reposição volêmica durante a hemodiluição pode ter promovido o desequilíbrio dos mecanismos regulatórios da homeostase, com conseqüente ativação neutrofílica por conta da sinalização celular.

Cotton *et al.* (2006) relataram que a administração de cristalóides é associada com altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias e conseqüentemente alta expressão de moléculas de adesão em decorrência do “inchaço” celular. Esta afirmação não condiz com os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que a gelatina promoveu maior atividade inflamatória após a hemodiluição em todos os parâmetros estudados. Este estudo forneceu escopo para contemporizar a respeito do tipo de reposição volêmica durante a hemodiluição, tanto normovolêmica quanto passiva, assim como o volume

utilizado, o tempo de infusão, a utilização concomitante de agentes vasopressores e os métodos utilizados para mensurar o estado volêmico do paciente.

A resposta hemodinâmica frente à hemodiluição foi compatível nos três grupos hemodiluídos. Após a hemodiluição, houve aumento do débito, frequência cardíaca e pressões de enchimento em resposta a diminuição da viscosidade do sangue. Estas respostas são responsáveis pela manutenção da oferta de oxigênio, mesmo em situações onde a hemoglobina está diminuída (Ickx *et al.*, 2000). O aumento do débito cardíaco ocorreu, provavelmente, em decorrência do aumento da frequência cardíaca (Ickx *et al.*, 2000), parâmetro que aumenta linearmente em função da diminuição da hemoglobina (Weiskopf *et al.*, 2003). Em estudo com cães submetidos a hemodiluição moderada, Fantoni *et al.* (1998) não observaram diferenças importantes nas variáveis hemodinâmicas quando o amido hidroxietílico foi comparado com o Ringer lactato.

A anestesia também pode interferir nas respostas compensatórias durante a hemodiluição (Van der Linden *et al.*, 2003; Fantoni *et al.*, 2005). Esta pesquisa foi conduzida com a manutenção anestésica por meio da administração de isoflurano, fármaco halogenado que pode elevar a frequência cardíaca em 20% dos valores basais (Morgan, Mikhail, 1996).

A SvO₂ diminuiu significativamente 60 e 120 minutos após o final da hemodiluição, fato esperado uma vez que o aumento da taxa de extração é um mecanismo compensatório a diminuição progressiva da hemoglobina (Van Woerkens *et al.*, 1992).

O comportamento das variáveis metabólicas e de oxigenação também foram similares, com mínimas diferenças entre os grupos estudados. Apenas o grupo HNA + NaCl apresentou diminuição do pH arterial, acidose metabólica (Stephens, Mythen, 2003) e aumento do sódio sérico, provavelmente em decorrência da hiperclorêmia

plasmática (Watters *et al.*, 2004). A quantidade exacerbada de NaCl 0,9% necessária para a reposição volêmica no grupo HNA + NaCl e o pH (4.5 – 7.0) desta solução disponível comercialmente pode ter contribuído consideravelmente para a instalação da acidose. Paralelamente, foi observado no grupo HNA + NaCl 0,9% diminuição da PaO₂ e da relação PaO₂/ FiO₂ imediatamente após a hemodiluição (não significativo) e 60 e 120 minutos após a infusão do sangue coletado. Estes achados concordam com os resultados descritos por Margarido *et al.* (2007), os quais observaram no grupo cristalóide um significativo declínio da PaO₂ no final da hemodiluição acompanhando de aumento do “shunt” intrapulmonar e do espaço morto, além do intenso colapso alveolar notado no grupo Ringer lactato. Apesar da presente investigação não ter avaliado parâmetros como o shunt e o espaço morto, o colapso alveolar focal e infiltrado inflamatório intersticial no grupo HNA + NaCl pode ter sido a causa da diminuição da relação PaO₂/ FiO₂ neste grupo.

Com este cenário, assume-se que, em um modelo de HNA, o tipo de fluidoterapia utilizado influencia essencialmente na resposta inflamatória, enquanto que o volume da solução administrada e a resposta hemodinâmica parece não influenciar a inflamação. Estes resultados concordam com outros investigadores os quais verificaram que a resposta inflamatória foi independente da quantidade de solução de NaCl 0,9% ou Ringer lactato empregada na ressuscitação do choque hemorrágico não-controlado (Watters *et al.*, 2004). Na presente investigação, foram utilizados volumes iguais de gelatina e amido hidroxietílico, ou seja, um volume três vezes menor que o da solução de cloreto de sódio 0,9% usado para reposição volêmica durante a HNA, no entanto, a resposta inflamatória verificada com uma grande quantidade de cloreto de sódio 0,9% foi menos intensa do que aquela observada no grupo tratado com gelatina.

As evidências acumuladas sugerem que a ressuscitação volêmica com HES é benéfica e promove uma atenuação dos mediadores inflamatórios e conseqüentemente reduz o edema intersticial. Vários mecanismos, como a supressão da infiltração de PMNs no pulmão, podem estar envolvidos neste processo (Rittoo *et al.*, 2004; Handrigan *et al.*, 2005). A liberação de citocinas e a ativação dos PMN com conseqüente extravasamento e migração para os tecidos, após o trauma e choque hemorrágico pode resultar em uma resposta inflamatória exacerbada (Botha *et al.*, 1995; Xu *et al.*, 2004). O amido hidroxietílico inibe a ativação do NF- κ B durante a sepse induzida por LPS em ratos (Tian *et al.*, 2003; Tian *et al.*, 2004; Tian *et al.*, 2005; Lv *et al.*, 2005) promovendo diminuição dos níveis de TNF- α e, também, a produção de radicais livres de oxigênio (Hofbauer *et al.*, 1999; Lang *et al.*, 2004; Di Filippo *et al.*, 2006). Os resultados observados nesta investigação corroboram com outros estudos disponíveis na literatura e, parece que o HES (130;0.4) não promove uma resposta inflamatória significativa neste modelo de HNA.

As gelatinas são oriundas de colágeno hidrolisado de bovinos, disponíveis em diferentes preparações e com diferentes concentrações eletrolíticas. Devido ao baixo peso molecular (aproximadamente 35kD), a meia-vida intravascular da gelatina é curta (aproximadamente 2 horas) (Boldt, 2004). Por ser proveniente de um peptídeo natural, este colóide tem maior chance de induzir imunogenicidade quando comparado a outros (Lee *et al.*, 2005). A gelatina tem sido utilizada sistematicamente em vários países da Europa, mas seu uso nos Estados Unidos foi abandonado em 1978 devido à alta incidência de reações de hipersensibilidade (Nearman, Herman, 1991; Barron *et al.*, 2004). Estas reações frequentemente são graves e com uma incidência muito maior do que aquela observada com os amidos (Laxenaire *et al.*, 1994).

A hemodiluição aguda com níveis de hematócrito ao redor de 15% dificilmente será executada em uma rotina cirúrgica, pois deve ser considerada também a perda de sangue no intra-operatório. Portanto, é necessária extrema cautela para extrapolar estes resultados para a prática clínica, uma vez que se trata de um estudo experimental distante das condições clínicas observadas na rotina.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÕES

- A gelatina e a solução de cloreto de sódio 0,9% ocasionaram resposta inflamatória mais pronunciada, fato evidenciado pelo aumento das citocinas inflamatórias.

- A hemodiluição normovolêmica aguda influenciou o *burst* oxidativo de neutrófilos e monócitos circulantes, independente do tipo de fluidoterapia utilizada para a reposição volêmica.

- A hemodiluição normovolêmica aguda realizada com gelatina aumentou o *burst* oxidativo de células monocíticas e macrófagos pulmonares, sendo estes resultados consistentes com os achados na histopatologia e imunoistoquímica do tecido pulmonar.

- Corroborando com os demais resultados, a presença de valores mais altos de IL-8 no lavado broncoalveolar aliada ao maior infiltrado inflamatório e associado a extensa expressão de COX-2 e E-selectina no grupo HNA + Gel sugere que este fluido pode comprometer a integridade pulmonar.

- A observação de edema, congestão, colapso alveolar e agregação de células mononucleares no exame histopatológico de animais tratados com solução de cloreto de sódio 0,9% sugere que este fluido pode afetar a função pulmonar.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS*

- Abbas AK, Litchman AH, Pober JS. Cytokines. In: Abbas AK, Litchman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 5ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. p.243-74.
- Abraham E, Chang, YH. Effects of hemorrhage on inflammatory response. *Arch Surg*. 1984;119:1154-7.
- Abraham E: Neutrophils and acute lung injury. *Crit Care Med*. 2003;31:S195-S199.
- Akamine N, Dernandes CJ, Wey SB, Knobel E. Choque séptico e mecanismos de agressão tecidual. In: *Manual de Terapia Intensiva*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2000, p.18-46.
- Alam HB, Austin B, Koustova E, Rhee P. Resuscitation-Induced Pulmonary Apoptosis and Intracellular Adhesion Molecule-1 Expression in Rats Are Attenuated by the Use of Ketone Ringer's Solution. *J Am Coll Surg*. 2001;193:255-63.
- 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*. 2004;60:91-99.
- Alam HB, Sun L, Ruff P, Austin B, Burris D, Rhee P. E- and P-selectin expression depends on the resuscitation fluid used in hemorrhaged rats. *J Surg Res*. 2000;94:145-52.
- Allison KP, Gosling P, Jones S, Pallister I, Porter KM. Randomised trial of hydroxyethyl starch versus gelatine for trauma resuscitation. *J Trauma*. 1999;47:1114-21.
- Altorki NK, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. COX-2 inhibition in upper aerodigestive tract tumors. *Semin Oncol*. 2004;31:30-36.
- Anderson MR, Blumer JL. Prognostic markers in sepsis: the role of leukotrienes. *Crit Care Med*. 2000;28:3762-3.
- Apstein CS, Dennis RC, Briggs L, Vogel WM, Frazer J, Valeri CR. Effect of erythrocyte storage and xyhemoglobin affinity changes on cardiac function. *Am J Physiol*. 1985;248:H508-H515.
- Avall A, Hyllner M, Bengtson JP, Carlsson L, Bengtsson A. Postoperative inflammatory response after autologous and allogeneic blood transfusion. *Anesthesiology*. 1997;87:511-16.

* Adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

- Ayala A, Chung CS, Grutkoski PS, Song GY. Mechanisms of immune resolution. *Crit Care Med.* 2003;31:S558-71.
- Babior BM. The respiratory burst oxidase. *Curr Opin Hematol.* 1995;2:55-60.
- Bahrami S, Zimmermann K, Szelényi Z, Hamar J, Scheiflinger F, Redl H, Junger WG. Small-volume fluid resuscitation with hypertonic saline prevents inflammation but not mortality in a rat model of hemorrhagic shock. *Shock.* 2006;25:283-89.
- Baron JF, De Kegel D, Prost AC, Mundler O, Arthaud M, Basset G, Maistre G, Masson F, Carayon A, Landault C. Low molecular weight hydroxyethyl starch 6% compared to albumin 4% during intentional hemodilution. *Intensive Care Med.* 1991;17:141-48.
- Barone B, Rodacki M, Cenci MC, Zajdenverg L, Milech A, de Oliveira JE. Diabetic ketoacidosis in adults-update of an old complication. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51:1434-47.
- Barron MI E, Wilkes M M, Navickis R J. A Systematic Review of the Comparative Safety of Colloids. *Arch Surg.* 2004;139:552-63.
- Bergqvist A, Fernö M, Skoog L. Quantitative enzyme immunoassay and semiquantitative immunohistochemistry of oestrogen and progesterone receptors in endometriotic tissue and endometrium. *J Clin Pathol.* 1997;50:496-500.
- Biboulet P, Capdevila X, Benetreau D, Aubas P, D'athis F, Cailar J. Haemodynamic effects of moderate normovolaemic haemodilution in conscious and anaesthetized patients. *Br J Anaesth.* 1996;76:81-84.
- Biffi WL, Moore EE, Moore FA, Peterson VM. Interleukin-6 in the injured patient: marker of injury or mediator of inflammation. *Ann Surg.* 1996;224:647-64.
- Blackwell TS, Christman JW. The role of nuclear factor-kappa B in cytokine gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;17:3-9.
- Bochud PY, Calandra T. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *BMJ.* 2003;326:262-66.
- Boldt J, Bormann BV, Kling D, Scheld H. Influence of acute normovolemic hemodilution on extravascular lung water in cardiac surgery. *Crit Care Med.* 1988;16:336-39.
- Boldt J, Brosch C, Röhm K, Papsdorf M, Mengistu A. Comparison of the effects of gelatin and a modern hydroxyethyl starch solution on renal function and inflammatory response in elderly cardiac surgery patients. *Br J Anaesth.* 2008;100:457-64.

- Boldt J, Ducke M, Kumle B, Papsdorf M, Zurmeyer EL. Influence of different volume replacement strategies on inflammation and endothelial activation in the elderly undergoing major abdominal surgery. *Intensive Care Med.* 2004;30:416-22.
- Boldt J. Do plasma substitutes have additional properties beyond correcting volume deficits? *Shock.* 2006;25:103-16.
- Boldt J. Fluid choice for resuscitation of the trauma patient: a review of the physiological, pharmacological, and clinical evidence. *Can J Anaesth.* 2004;51:500-13.
- Boldt J. Volume replacement in the surgical patient--does the type of solution make a difference? *Br J Anaesth.* 2000;84:783-93.
- Borish LC, Steinke JW. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:S460-75.
- Botha AJ, Moore FA, Moore EE, Sauaia A, Banerjee A, Peterson VM. Early neutrophil sequestration after injury: a pathogenic mechanism for multiple organ failure. *J Trauma.* 1995;39:411-17.
- Brooks, M. Transfusion Medicine In: Murtaugh, R.J.; Kaplan, P.M. *Veterinary Emergency and Critical Care Medicine.* St Louis : Mosby Year Book, 1992. p. 536-46.
- Brown E, Lloyd L, Sheth A, Oweis T, Chen JC, Penman L, Mattson JC, Steel K. Effect of resuscitation solutions on the immune status of dogs in hemorrhagic shock. *Am Surg.* 1995;61:669-72.
- Burrows L, Tartter P. Effect of blood transfusions on colonic malignancy recurrent rate. *Lancet.* 1982;2:662.
- Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993;55:552-9.
- Calandra T, Gerain J, Heumann D, Baumgartner JD, Glauser MP. High circulating levels of interleukin-6 in patients with septic shock: evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines. The Swiss-Dutch I5 Immunoglobulin Study Group. *Am J Med.* 1991;91:23-29.
- Caldwell CW, Taylor HM. A rapid, no wash technique for immunophenotypic analysis by flow cytometry. *Am J Clin Pathol.* 1986;85:600-07.
- Calhoun WJ, Reed HE, Moest DR, Stevens CA. Enhanced superoxide production by alveolar macrophages and air-space cells, airway inflammation, and alveolar

- macrophage density changes after segmental antigen bronchoprovocation in allergic subjects. *Am Rev Respir Dis.* 1992;145:317-25.
- Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood.* 1994;84:2068-101.
- Carraway MS, Welty-Wolf KE, Kantrow SP, Huang YC, Simonson SG, Que LG, Kishimoto TK, Piantadosi CA. Antibody to E- and L-selectin does not prevent lung injury or mortality in septic baboons. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:938-49.
- Carrigan SD, Scott G, Tabrizian M. Toward resolving the challenges of sepsis diagnosis. *Clin Chem.* 2004;50:1301-14.
- Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin.* 2000;16:193-213.
- Casey LC. Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:S92-6.
- Chabot F, Mitchell JA, Gutteridge JMC, Evans TW. Reactive oxygen species in acute lung injury. *Eur Respir J.* 1998;11:745-57.
- Chang S-W, Westcott JY, Pickett WC, Murphy RC, Voelkel NF. Endotoxin-induced lung injury in rats: Role of eicosanoids. *J Appl Physiol.* 1989;66:2407-418.
- Chen Z, Chen H, Rhee P, Koustova E, Ayuste EC, Honma K, Nadel A, Alam HB. Induction of profound hypothermia modulates the immune/inflammatory response in a swine model of lethal hemorrhage. *Resuscitation.* 2005;66:209-16.
- Chen ZT, Li SL, Cai EQ, Wu WL, Jin JS, Zhu B. LPS induces pulmonary intravascular macrophages producing inflammatory mediators via activating NF-kappaB. *J Cell Biochem.* 2003;89:1206-14.
- Cho W-S, Chae C. Expression of Nitric Oxide Synthase 2 and Cyclooxygenase-2 in Swine Experimentally Infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet Pathol.* 2004;41:666-72.
- Christensen G, Sorensen V, Mousing J. Diseases of the respiratory system. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ. *Diseases of Swine.* 8th ed. Iowa State University Press, Ames, 1999, pp. 913-940.
- Christman JW, Lancaster LH, Blackwell TS. Nuclear factor kappa B: A pivotal role in the systemic inflammatory response syndrome and new target for therapy. *Intensive Care Med.* 1998;24:1131-38.

- Cirelli RA, Carey LA, Fisher JK, Rosolia DL, Elsasser TH, Caperna TJ, Gee MH, Albertine KH. Endotoxin infusion in anesthetized sheep is associated with intrapulmonary sequestration of leukocytes that immunohistochemically express tumor necrosis factor-alpha. *J Leukoc Biol.* 1995;57:820-26.
- Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 2002;420:885-91.
- Collis RE, Collins PW, Gutteridge CN, Kaul A, Newland AC, Williams DM, Webb AR. The effect of hydroxyethyl starch and other plasma volume substitutes on endothelial cell activation: An in vitro study. *Intensive Care Med.* 1994;20:37-41.
- Committee on fluid resuscitation for combat casualties, 1999. *Fluid resuscitation: state of the science for treating combat casualties and civilian injuries.* Report of the Institute of Medicine, Washington, DC: National Academy Press.
- Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, Fink MP, Levy MM, Abraham E, MacIntyre NR, Shabot MM, Duh MS, Shapiro MJ. The CRIT study: anemia and blood transfusion in the critically ill- current clinical practice in the United States. *Crit Care Med.* 2004;32:39-52.
- Cotton BA, Guy JS, Morris Jr. JA, Abumrad NN. The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock.* 2006;26:115-21.
- Crosby E. Re-evaluating the transfusion trigger: how low is safe? *Am J Ther.* 2002;9:411-6.
- Cummings CJ, Sessler CN, Beall LD, Fisher BJ, Best AM, Fowler III AA. Soluble E-Selectin Levels In Sepsis And Critical Illness Correlation With Infection And Hemodynamic Dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:431-37.
- Cunneen J, Cartwright M. The puzzle of sepsis: fitting the pieces of the inflammatory response with treatment. *AACN Clin Issues.* 2004;15:18-44.
- Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, De Groote D, Franchimont P, Lamy M. Cytokine serum level during severe sepsis in human IL-6 as a marker of severity. *Ann Surg.* 1992;215:356-62.
- Del Vecchio A, Laforgia N, Capasso M, Iolascon A, Latini G. The role of molecular genetics in the pathogenesis and diagnosis of neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* 2004;31:53-67.
- DeLong WG, Born CT. Cytokines in patients with polytrauma. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;422:57-65.

- Demertzis S, Langer F, Graeter T, Dwenger A, Georg T, Schäfers HJ. Amelioration of lung reperfusion injury by L- and E- selectin blockade. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999;16:174-80.
- Di Filippo A, Ciapetti M, Prencipe D, Tini L, Casucci A, Ciuti R, Messeri D, Falchi S, Dani C. Experimentally-Induced Acute Lung Injury: the Protective Effect of Hydroxyethyl Starch. *Ann Clin Lab Sci.* 2006;36:345-52.
- Dieterich HJ, Kraft D, Sirtl C, Laubenthal H, Schimetta W, Pölz W, Gerlach E, Peter K. Hydroxyethyl starch antibodies in humans: incidence and clinical relevance. *Anesth Analg.* 1998;86:1123-6.
- Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med.* 1993;14:328:106-13.
- Dinarello CA. Cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996;216:133-65.
- Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000;118:503-8.
- Dinarello CA. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *J Infect Dis.* 1991;163:1177-84.
- Droge W: Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
- Du Manoir JM, Albright BN, Stevenson G, Thompson SH, Mitchell GB, Clark ME, Caswell JL. Variability of neutrophil and pulmonary alveolar macrophage function in swine. *Vet Immunol Immunopathol.* 2002;89:175-86.
- DuBois RN, Awad J, Morrow J, Roberts LJ 2nd, Bishop PR. Regulation of eicosanoid production and mitogenesis in rat intestinal epithelial cells by transforming growth factor-alpha and phorbol ester. *J Clin Invest.* 1994;93:493-8.
- Dvory-Sobol H, Cohen-Noyman E, Kazanov D, Figer A, Birkenfeld S, Madar-Shapiro L, Benamouzig R, Arber N. Celecoxib leads to G2/M arrest by induction of p21 and down-regulation of cyclin B1 expression in a p53-independent manner. *Eur J Cancer.* 2006;42:422-6.
- Engel JM, Welters I, Rupp M, Langefeld T, Ruwoldt R, Menges T, Hempelmann G. Influence of colloid fluids on polymorphonuclear granulocyte function in vivo. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001;45:385-89.
- Ermert L, Ermert M, Merkle M, Goppelt-Struebe M, Duncker HR, Grimminger F, Seeger W. Rat pulmonary cyclooxygenase-2 expression in response to endotoxin

- challenge: Differential regulation in the various types of cells in the lung. *Am J Pathol.* 2000;156:1275-87.
- Escobar GA, Cheng AM, Moore EE, Johnson JL, Tannahill C, Baker HV, Moldawer LL, Banerjee A. Stored packed red blood cell transfusion up-regulates inflammatory gene expression in circulating leukocytes. *Ann Surg.* 2007;246:129-34.
- Fairburn K, Kunaver M, Wilkinson LS, Cambridge G, Haskard D, Edwards JC. Intercellular adhesion molecules in normal synovium. *Br J Rheumatol.* 1993;32:302-6.
- Falk JL, Rackow EC, Weil MH. Colloid and crystalloid fluid resuscitation In: Shoemaker WC, Ayres S, Grenvik A, Holbrook PR, Thompson WL. *Textbook of Critical Care.* 2 ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1989. p.1055-71.
- Fan J, Marshall JC, Jimenez M, Shek PN, Zagorski J, Rotstein OD. Hemorrhagic shock primes for increased expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in the lung: Role in pulmonary inflammation following lipopolysaccharide. *J Immunol.* 1998;161:440-47.
- Fan J, Ye RD, Malik AB. Transcriptional mechanisms of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001;281:L1037-L1050.
- Fantoni DT, Auler JOC, Ambrosio AM, Migliati ER, Futema F, Bechara JN, Tamura EY, Nicolau AA. Comparison of two different replacement methods for normovolemic acute haemodilution. *Anesthesia, Pain, Intensive Care and Emergency Medicine.* In: 13th Annual Meeting APICE - International Symposium on Critical Care Medicine 1998;37-39, Trieste, Italy.
- Fantoni DT, Cortopassi SRG. *Anestesia em cães e gatos.* 1 ed. São Paulo: Roca, 2002. 389 p.
- Fantoni DT, Otsuki DA, Ambrósio AM, Tamura EY, Auler Jr JOC. A comparative evaluation of inhaled halothane, isoflurane, and sevoflurane during acute normovolemic hemodilution in dogs. *Anesth Analg.* 2005;100:1014-19.
- Felfernig M, Franz A, Braunlich P, Fohringer C, Kozek-Langenecker S.A. The effects of hydroxyethyl starch solutions on thromboelastography in preoperative male patients. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2003;47:70-3.
- Feng X, Liu J, Yu M, Zhu S, Xu J. Hydroxyethyl starch, but not modified fluid gelatin, affects inflammatory response in a rat model of polymicrobial sepsis with capillary leakage. *Anesth Analg.* 2007;104:624-30.

- Ferro TJ, Gertzberg N, Selden L, Neumann P, Johnson A. Endothelial barrier dysfunction and p42 oxidation induced by TNF-alpha are mediated by nitric oxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 1997;272:L979-L988.
- Finkel T, Holbrook NJ: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408:239-47.
- Finkel T: Oxygen radicals and signaling. *Curr Opin Cell Biol*. 1998;10:248-53.
- Fischer DJ, Torrence NJ, Sprung RJ, Spence DM. Determination of erythrocyte deformability and its correlation to cellular ATP release using microbore tubing with diameters that approximate resistance vessels in vivo. *Analyst*. 2003;128:1163-68.
- Forman HJ, Torres M, Fukuto J. Redox signaling. *Mol Cell Biochem*. 2002;234-235:49-62.
- Fraga AF, Fantoni DT, Otsuki DA, Pasqualucci CA, Abduch MCD, Auler Junior JOC. Evidence for myocardial defects under extreme acute normovolemic hemodilution with hydroxyethyl starch and lactated ringer's solution. *Shock*. 2005;24:388-95.
- Frangogiannis NG, Youker KA, Rossen R.D. Cytokines and the microcirculation in ischemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 1998;30:2567-576.
- Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Buurman W. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest*. 1999;116:1233-39.
- Freeman GJ, Gribben JG, Boussiotis VA, Ng JW, Restivo VA Jr, Lombard LA, Gray GS, Nadler LM. Cloning of B7-2: a CTLA-4 counter-receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science*. 1993;262:909-11.
- Fries JW, Williams AJ, Atkins RC, Newman W, Lipscomb MF, Collins T. Expression of VCAM-1 and E-selectin in an in-vivo model of endothelial activation. *Am J Pathol*. 1993;143:725-37.
- Gallagher J.D. Hemodilution: physiology and limits of anemia. In: Lake CL; Moore RA *Blood homeostasis, transfusion and alternatives in the perioperative period*. New York: Raven Press, 1995. p.345-80.
- Giroux M, Descoteaux A. Cyclooxygenase-2 expression in macrophages: Modulation by protein kinase Calpha. *J Immunol*. 2000;165:3985-991.
- Goldman S, Ellis R, Dhar V, Cairo MS. Rationale and potential use of cytokines in the prevention and treatment of neonatal sepsis. *Clin Perinatol*. 1998;25:699-710.

- Greenfield LJ, Reif ME, Colason JJ. Comparative effects of interstitial pulmonary edema produced by venous hypertension or hemodilution in perfused lungs. *Surgery*. 1972; 71: 857-64.
- Gross JB. Estimating allowable blood loss: corrected for dilution. *Anesthesiology*. 1983;58:277-80.
- Hack CE, Aarden LA., Thijs LG. Role of cytokines in sepsis. *Adv Immunol*. 1997;66:101-95.
- Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJ, Eerenberg-Belmer AJ, Thijs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood*. 1989;74:1704-10.
- Hammond B, Hess ML. The oxygen free radical system: potential mediator of myocardial injury. *J Am Coll Cardiol*. 1985; 6:215-20.
- Handrigan MT, Burns AR, Donnachie EM, Bowden RA. Hydroxyethyl starch inhibits neutrophil adhesion and transendothelial migration. *Shock*. 2005;24:434-49.
- Hansbrough JF, Wikström T, Braide M, Tenenhaus M, Rennekampff OH, Kiessig V, Zapata-Sirvent R, Bjursten LM. Effects of E-selectin and P-selectin blockade on neutrophil sequestration in tissues and neutrophil oxidative burst in burned rats. *Crit Care Med*. 1996;24:1366-372.
- Hardy J, Bertone AL, Weisbrode SE, Muir WW, O'Dorisio TM, Masty J. Cell trafficking, mediator release, and articular metabolism in acute inflammation of innervated or denervated isolated equine joints. *Am J Vet Res*. 1998;59:88-100.
- Hasui, M., Hirabayashi, Y., Kobayashi, Y. Simultaneous measurement by flow cytometry of phagocytosis and hydrogen peroxide production of neutrophils in whole blood. *J Immunol Methods* 1989;117:53-8.
- Haugen TS, Skjøsberg OH, Kähler H, Lyberg T. Production of oxidants in alveolar macrophages and blood leukocytes. *Eur Respir J*. 1999;14:1100-105.
- Hauser CJ, Shoemaker WC, Turpin L. Oxygen transport responses to colloids and crystalloids in critically ill surgical patients. *Surg Gynecol Obstet*. 1980;150:811-6.
- Hauser GJ, Ben-Ari J, Colvin MP. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med*. 1998;24:481-6.
- Haussinger D, Schliess F, Warskulat U, Vom Dahl S. Liver cell hydration. *Cell Biol Toxicol*. 1997;13:275-87.

- Hebert JC, O'Reilly M, Bednar M. Modifying the host response to injury. The future of trauma care. *Surg Clin North Am.* 1995;75:335-49.
- Hebert PC, Fergusson DA. Red blood cell transfusions in critically ill patients. *JAMA.* 2002; 288: 1525-1526.
- Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, Tweeddale M, Schweitzer I, Yetisir E. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med.* 1999;340:409-17.
- Heddle NM, Klama L, Singer J, Richards C, Fedak P, Walker I, Kelton JG. The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. *N Engl J Med.* 1994;331:625-28.
- Heeg K, Dalpke A. TLR-induced negative regulatory circuits: role of suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins in innate immunity. *Vaccine.* 2003;21:S61-7.
- Heiss MM, Fraunberger P, Delanoff C, Stets R, Allgayer H, Strohle MA, Tarabichi A, Faist E, Jauch KW, Schildberg FW. Modulation of immune response by blood transfusion: evidence for a differential effect of allogeneic and autologous blood in colorectal cancer surgery. *Shock.* 1997;8:402-08.
- Hendrickson JE, Hillyer CD. Noninfectious Serious Hazards of Transfusion. *Anesth Analg.* 2009;108:759-69.
- Hensler T, Heinemann B, Sauerland S, Lefering R, Bouillon B, Andermahr J, Neugebauer EA. Immunologic alterations associated with high blood transfusion volume after multiple injury: effects on plasmatic cytokine receptor concentrations. *Shock.* 2003;20:497-502.
- Hill GE, Frawley WH, Griffith KE, Forestner JE, Minei JP. Allogeneic blood transfusion increases the risk of postoperative bacterial infection: a meta-analysis. *J Trauma.* 2003;54:908-14.
- Hirani N, Antonicelli F, Strieter RM, Wiesener MS, Ratcliffe PJ, Haslett C, Donnelly SC. 2001. The regulation of interleukin-8 by hypoxia in human macrophages-a potential role in the pathogenesis of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Mol Med.* 2001;7:685-97.
- Ho J, Milkovic S, Gray L. Transfusion of stored red blood cells (RBC) occludes the rat microvasculature in-vivo. *Blood.* 2001;98:544.

- Hofbauer R, Moser D, Hornykewycz S, Frass M, Kapiotis S. Hydroxyethyl starch reduces the chemotaxis of white cells through endothelial cell monolayers. *Transfusion*. 1999;39:289-94.
- Hoffmann JN, Vollmar B, Laschke MW, Inthorn D, Schildberg FW, Menger MD. Hydroxyethyl starch (130 kD), but not crystalloid volume support, improves microcirculation during normotensive endotoxemia. *Anesthesiology*. 2002;97:460-70.
- Horstick G, Lauterbach M, Kempf T, Bhakdi S, Heimann A, Horstick M, Meyer J, Kempfski O. Early albumin infusion improves global and local hemodynamics and reduces inflammatory response in hemorrhagic shock. *Crit Care Med*. 2002;30:851-55.
- Hwang D, Jang BC, Yu G, Boudreau M. Expression of mitogen-inducible cyclooxygenase induced by lipopolysaccharide: Mediation through both mitogen-activated protein kinase and NF- κ B signaling pathways in macrophages. *Biochem Pharmacol*. 1997;54:87-96.
- Hyman NH, Foster Jr R S, Demeules JE. Blood transfusions and survival after lung cancer resection. *Am J Surg*. 1985;149:502-07.
- Ickx BE, Rigolet M, Van Der Linden PJ. Cardiovascular and metabolic response to acute normovolemic anemia. Effects of anesthesia. *Anesthesiology*. 2000;93:1011-16.
- Ikeda I, Kasajima T, Ishiyama S, Shimojo T, Takeo Y, Nishikawa T, Kameoka S, Hiroe M, Mitsunaga A. Distribution of inducible nitric oxide synthase in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 1997;92:1339-341.
- Inoue H, Tanabe T. Transcriptional role of the nuclear factor κ B site in the induction by lipopolysaccharide and suppression by dexamethasone of cyclooxygenase-2 in U937 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;244:143-48.
- Ishida Y, Kondo T, Kimura A, Matsushima K, Mukaida N. Absence of IL-1 receptor antagonist impaired wound healing along with aberrant NF- κ B activation and a reciprocal suppression of TGF- β signal pathway. *J Immunol*. 2006;176:5598-606.
- J. Zhao, Juettner B, Scheinichen D, Jaeger K, Heine J, Piepenbrock S. Respiratory burst activity of polymorphonuclear cells is dependent on the cell preparation technique. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003;47:702-706.

- Jaeger K, Heine J, Ruschulte H, Juttner B, Scheinichen D, Kuse ER, Piepenbrock S. Effects of colloidal resuscitation fluids on the neutrophil respiratory burst. *Transfusion*. 2001;41:1064-68.
- Jaeger K, Juttner B, Heine J, Ruschulte H, Scheinichen D, Piepenbrock S. Effect of hydroxyethyl starch and modified gelatin on phagocytic activity of human neutrophils and monocytes: results of a randomized, prospective clinical study. *Infusionsther Transfusionsmed*. 2000;27:256-60.
- Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Imunobiologia*. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. p.32-33.
- Jean-Baptiste E. Cellular Mechanisms in Sepsis. *J Intensive Care Med*. 2007;22:63-72.
- Jensen LS, Hokland M, Nielsen HJ. A randomized controlled study of the effect of bedside leucocyte depletion on the immunosuppressive effect of whole blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg*. 1996;83:973-77.
- Johan GAB. Albumin and artificial colloids in fluid management: Where does the clinical evidence of their utility stand? *Crit Care*. 2000;4:S16-20.
- Johnston CJ, Finkelstein JN, Gelein R, Oberdorster G. Pulmonary cytokine and chemokine mRNA levels after inhalation of lipopolysaccharide in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci*. 1998;46:300-07.
- Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. *J Biol Chem*. 1993;268:9049-54.
- Juliano RL, Haskill S. Signal transduction from the extracellular matrix. *J Cell Biol*. 1993;120:577-85.
- Jungheinrich C, Scharpf R, Wargenau M, Beperling F, Baron J.F. The pharmacokinetics and tolerability of an intravenous infusion of the new hydroxyethyl starch 130/0.4 (6%, 500 mL) in mild-to-severe renal impairment. *Anesth Analg*. 2002;95:544-51.
- Kabir K, Gelin JP, Chen M, Chen D, Zhang D, Luo X, Yang JH, Carter D, Rabinovici R. Characterization of a murine model of endotoxin-induced acute lung injury. *Shock*. 2002;17:300-03.
- Kansas GS. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood*. 1996;88:3259-87.

- Kemmerich B, Rossing TH, Pennington JE. Comparative oxidative microbicidal activity of human blood monocytes and alveolar macrophages and activation by recombinant gamma interferon. *Am Rev Respir Dis*. 1987;136:266-70.
- Kettler D. Permissive anaemia compared with blood transfusion in patients with cardiac disease: another point of view. *Curr Opin Anaesthesiol*. 1994;7:1-4.
- Kienast K, MuÈller-Quernheim J, Knorst M, Lubjuhn S, Ferlinz R. In vitro study of human alveolar macrophage and peripheral blood mononuclear cell reactive oxygen intermediates release induced by sulfur dioxide at different concentrations. *Lung*. 1994^a;172:335-45.
- Kienast K, Knorst M, Lubjuhn S, MuÈller-Quernheim J, Ferlinz R. Nitrogen dioxide-induced reactive oxygen intermediates production by human alveolar macrophages and peripheral blood mononuclear cells. *Arch Environ Health*. 1994^b;49:246-50.
- Kim PK, Deutschman CS. Inflammatory responses and mediators. *Surg Clin North Am*. 2000;80:885-94.
- Kolb M, Margetts PJ, Anthony DC, Pitossi F, Gauldie J. Transient expression of IL-1beta induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 2001;107:1529-36.
- Kotake Y, Yamamoto M, Matsumoto M, Yamada T, Nagata H, Morisaki H, Takeda J. Difference in autologous blood transfusion-induced inflammatory responses between acute normovolemic hemodilution and preoperative donation. *J Anesth*. 2009;23:61-66.
- Koustova E, Stanton K, Gushchin V, Alam HB, Stegalkina S, Rhee PM. Effects of lactated Ringer's solutions on human leukocytes. *J Trauma*. 2000;52:872-78.
- Kreimeier U, Messmer K. Hemodilution in clinical surgery: state of the art 1996. *World J Surg*. 1996;20:1208-17.
- Kristiansson M, Soop M, Saraste L, Sundqvist KG. Cytokines in stored red blood cell concentrates: promoters of systemic inflammation and simulators of acute transfusion reactions? *Acta Anaesthesiol Scand*. 1996;40:496-501.
- Ksontini R, MacKay SL, Moldawer LL. Revisiting the role of tumor necrosis factor alpha and the response to surgical injury and inflammation. *Arch Surg*. 1998;133:558-67.
- Kuo HP, Yu CT. Alveolar macrophage subpopulations in patients with active pulmonary tuberculosis. *Chest*. 1993;104:1773-778.

- Kuzu MA, Köksoy C, Kuzu I, Gürhan I, Ergün H, Demirpence E. Role of integrins and intracellular adhesion molecule-1 in lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Am J Surg.* 2002;183:70-4.
- Kwak SH, Choi JI, Park JT. Effects of propofol on endotoxin-induced acute lung injury in rabbit. *J Korean Med Sci.* 2004;19:55-61.
- Kyriakides C, Favuzza J, Wang Y, Austen WG Jr, Moore FD Jr, Hechtman HB. Recombinant soluble P-selectin glycoprotein ligand 1 moderates local and remote injuries following experimental lower-torso ischaemia. *Br J Surg.* 2001;88:825-30.
- Landers DF, Hill GE, Wong KC, Fox IJ. Blood transfusion-induced immunomodulation. *Anesth Analg.* 1996;82:187-204.
- Lang F, Busch GL, Ritter M, Volkl H, Waldegger S, Gulbins E, Haussinger D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol Rev.* 1998;78:248-73.
- Lang JD Jr, Figueroa M, Chumley P, Aslan M, Hurt J, Tarpey MM, Alvarez B, Radi R, Freeman BA. Albumin and hydroxyethyl starch modulate oxidative inflammatory injury to vascular endothelium. *Anesthesiology.* 2004;100:51-8.
- Lang K, Suttner S, Boldt J, Kumle B, Nagel D. Volume replacement with HES 130/0.4 may reduce the inflammatory response in patients undergoing major abdominal surgery. *Can J Anaesth.* 2003;50:1009-16.
- Larrick JW, Kunkel SL. The role of tumor necrosis factor and interleukin 1 in the immunoinflammatory response. *Pharm Res.* 1988;5:129-39.
- Laxenaire MC, Charpentier C, Feldman L. Anaphylactoid reactions to colloid plasma substitutes: incidence, risk factors, mechanisms. A French multicenter prospective study. *Ann Fr Anesth Reanim.* 1994;13:301-10.
- Lee CC, Chang IJ, Yen ZS, Hsu CY, Chen SY, Su CP, Chiang WC, Chen SC, Chen WJ. Effect of different resuscitation fluids on cytokine response in a rat model of hemorrhagic shock. *Shock.* 2005;24:177-81.
- Ley K, Arfors KE. Changes in macromolecular permeability by intravascular generation of oxygen-derived free radicals. *Microvasc Res.* 1982;24:25-33.
- Liaudet L, Mabley JG, Pacher P, Virag L, Soriano FG, Marton A, Hasko G, Deitch EA, Szabo C. Inosine exerts a broad range of antiinflammatory effects in a murine model of acute lung injury. *Ann Surg.* 2002;235:568-78.

- Loisa P, Rinne T, Laine S, Hurme M, Kaukinen S. Anti-inflammatory cytokine response and the development of multiple organ failure in severe sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003;47:319-25.
- Looney MR, Gropper MA, Matthay MA. Transfusion-related acute lung injury: a review. *Chest*. 2004;126:249-58.
- Lum H, Roebuck KA. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001; 280: C719-C741.
- Luster MI, Germolec DR, Yoshida T, Kayama F, Thompson M. Endotoxin induced cytokine gene expression and excretion in the liver. *Hepatology*. 1994;19:480-88.
- Lv R, Zhou W, Chu C, Xu J. Mechanism of the effect of hydroxyethyl starch on reducing pulmonary capillary permeability in a rat model of sepsis. *Ann Clin Lab Sci*. 2005;35:174-83.
- Lv R, Zhou Z-Q, Wu H-W, Jin Y, Zhou W, Xu J-G. Hydroxyethyl starch exhibits antiinflammatory effects in the intestines of endotoxemic rats. *Anesth Analg*. 2006;103:149-55.
- MacKay RJ. Inflammation in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2000;16:15-27.
- Magder S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Crit Care*. 2006;10:208.
- Maier KL. How the lung deals with oxidants. *Eur Respir J*. 1993;6:334-36.
- Malkevich NV, Dong F, VanderMolen CA, Philbin NB, Rice JP, Scultetus A, Hong J, Arnaud F, Hall CH, McGwin Jr. G, Pearce LB, Handrigan M, Ahlers S, McCarron RM, Freilich D. Innate immune response after resuscitation with hemoglobin-based oxygen carrier and recombinant factor viia in uncontrolled hemorrhagic shock in a swine model. *J Trauma*. 2008;64:1498-510.
- Malone DL, Dunne J, Tracy JK, Putnam AT, Scalea TM, Napolitano LM. Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma. *J Trauma*. 2003;54:898-907.
- Maloney CG, Kutchera WA, Albertine KH, McIntyre TW, Prescott SM, Zimmerman GA. Inflammatory agonists induce cyclooxygenase type 2 expression by human neutrophils. *J Immunol*. 1998;160:1402-10.
- Margarido CB, Margarido NF, Otsuki DA, Fantoni DT, Marumo CK, Kitahara FR, Magalhães AA, Pasqualucci CA, Auler Jr JOC. Pulmonary function is better

- preserved in pigs when acute normovolemic hemodilution is achieved with hydroxyethyl starch versus lactated ringer's solution. *Shock*. 2007;27:390-96.
- Marik PE, Sibbald WJ. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993;269:3024-029.
- Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor- α and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma. *Crit Care Med*. 1997;25:1813-19.
- Martin L, Watier H, Vaillant L, Aractingi S. Sjogren's syndrome and vitiligo in a woman with posttransfusion microchimerism. *Am J Med*. 2001;111:419-21.
- Martins PS, Brunialti MKC, Martos LSW, Machado FR, Assunção MS, Blecher S, Salomão R. Expression of cell surface receptors and oxidative metabolism modulation in the clinical continuum of sepsis. *Crit Care*. 2008;12:R25 (doi:10.1186/cc6801).
- Martins PS, Kallas EG, Neto MC, Dalboni MA, Blecher S, Salomão R. Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock*. 2003;20:208-12.
- Massoco CO. *Receptores benzodiazepínicos periféricos e a resposta imune inata de equinos: efeitos do midazolam*. São Paulo, 2005. 126p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- Mathru M, Kleinman B, Blakeman B, Dries D, Zecca A, Rao T. Cardiovascular adjustments and gas exchange during extreme hemodilution in humans. *Crit Care Med*. 1991;19:700-04.
- Mayers I, Johnson D. The nonspecific inflammatory response to injury. *Can J Anaesth*. 1998;45:871-79.
- McBride WT, Armstrong MA, Crockard AD, McMurray TJ, Rea JM. Cytokine balance and immunosuppressive changes at cardiac surgery: contrasting response between patients and isolated CPB circuits. *Br J Anaesth*. 1995;75:724-33.
- McDonald MC, Mota-Filipe H, Paul A, Cuzzocrea S, Abdelrahman M, Harwood S, Plevin R, Chatterjee PK, Yaqoob MM, Thiernemann C. Calpain inhibitor I reduces the activation of nuclear factor-kB and organ injury/dysfunction in hemorrhagic shock. *FASEB J*. 2001;15:171-86.
- Mishler JM. Synthetic plasma volume expanders--their pharmacology, safety and clinical efficacy. *Clin Haematol*. 1984;13:75-92.

- Monk TG, Goodnough LT, Brecher ME, Pulley DD, Colberg JW, Andriole GL, Catalona WJ. Acute normovolemic hemodilution can replace preoperative autologous blood donation as a standard of care for autologous blood procurement in radical prostatectomy. *Anesth Analg*. 1997;85:953-58.
- Montefort S, Feather IH, Wilson SJ, Haskard DO, Lee TH, Holgate ST, Howarth PH. The expression of leukocyte-endothelial adhesion molecules is increased in perennial allergic rhinitis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1992;7:393-98.
- Morgan GE, Mikhail MS. Inhalational anesthetics. In: *Clinical Anesthesiology*. 2ed. Stamford, Appleton & Lange, cap. 7, 1996, p.109-27.
- Mortelmans YJ, Vermaut G, Verbruggen AM, Arnout JM, Vermeylen J, Van Aken H, Mortelmans LA. Effects of 6% hydroxyethyl starch and 3% modified fluid gelatin on intravascular volume and coagulation during intraoperative hemodilution. *Anesth Analg*. 1995;81:1235-42.
- Müller AM, Cronen C, Müller KM, Kirkpatrick CJ. Heterogeneous expression of cell adhesion molecules by endothelial cells in ARDS. *J Pathol*. 2002;198:270-75.
- Muller Kobold AC, Tulleken JE, Zijlstra JG, Sluiter W, Hermans J, Kallenberg CG, Tervaert JW. Leukocyte activation in sepsis; correlations with disease state and mortality. *Intensive Care Med*. 2000;26:883-92.
- Mulligan MS, Miyasaka M, Tamatani T, Jones ML, Ward PA. Requirements for L-selectin in neutrophil-mediated lung injury in rats. *J Immunol*. 1994;152:832-40.
- Murao Y, Loomis W, Wolf P, Hoyt DB, Junger WG. Effect of dose of hypertonic saline on its potential to prevent lung tissue damage in a mouse model of hemorrhagic shock. *Shock*. 2003;20:29-34.
- Muyllé L, Joos M, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME. Increased tumor necrosis factor alpha (TNF alpha), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF alpha and IL-6 levels and febrile transfusion reactions. *Transfusion*. 1993;33:195-99.
- Myers MJ, Farrell DE, Palmer DC, Pos LO. Inflammatory mediator production in swine following endotoxin challenge with or without co-administration of dexamethasone. *Int Immunopharmacol*. 2003;3:571-79.
- Mynster T, Dybkjoer E, Kronborg G, Nielsen HJ. Immunomodulating effect of blood transfusion: is storage time important? *Vox Sang*. 1998;74:176-81.

- Mynster T, Nielsen HJ. The impact of storage time of transfused blood on postoperative infectious complications in rectal cancer surgery: Danish RANX05 Colorectal Cancer Study Group. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35:212-17.
- Nast-Kolb D, Waydhas C, Gippner-Steppert C, Schneider I, Trupka A, Ruchholtz S, Zettl R, Schweiberer L, Jochum M. Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1997;42:446-55.
- Navarro C, Mendoza F, Barrera L, Segura-Valdez L, Gaxiola M, Páramo I, Selman M. Up-regulation of L-Selectin and E-Selectin in Hypersensitivity Pneumonitis. *Chest*. 2002;121:354-60.
- Nearman HS, Herman ML. Toxic effects of colloids in the intensive care unit. *Crit Care Clin*. 1991;7:713-23.
- Ness PM, Bourke DL, Walsh PC. A randomized trial of perioperative hemodilution versus transfusion of preoperatively deposited autologous blood in elective surgery. *Transfusion*. 1992;32:226-30.
- Netea MG, van der Meer JW, van Deuren M, Kullberg BJ. Proinflammatory cytokines and sepsis syndrome: not enough, or too much of a good thing? *Trends Immunol*. 2003;24:254-58.
- Ng PC, Li K, Wong RP, Chui K, Wong E, Li G, Fok TF. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003;88:F209-13.
- Nicholson JP, Wolmarans MR, Park GR. The role of albumin in critical illness. *Br J Anaesth*. 2000;85:599-610.
- Nielsen JS, Larsson A, Rix T, Nyboe R, Gjedsted J, Krog J, Ledet T, Tønnesen E. The effect of activated protein C on plasma cytokine levels in a porcine model of acute endotoxemia. *Intensive Care Med*. 2007;33:1085-93.
- Nielsen VG, Baird MS, Brix AE, Matalon S. Extreme, progressive isovolemic hemodilution with 5% human albumin, PentaLyte, or Hextend does not cause hepatic ischemia or histologic injury in rabbits. *Anesthesiology*. 1999;90:1428-35.
- Niinikoski J, Laaksonen V, Meretoja O, Jalonen J, Inberg M.V. Oxygen transport to tissue under normovolemic moderate and extreme hemodilution during coronary bypass operation. *Ann Thorac Surg*. 1981;31:134-43.

- Nihiro H, Otsuka T, Izuhara K, Yamaoka K, Ohshima K, Tanabe T, Hara S, Nemoto Y, Tanaka Y, Nakashima H, Niho Y. Regulation by interleukin-10 and interleukin-4 of cyclooxygenase-2 expression in human neutrophils. *Blood*. 1997;89:1621-28.
- Nohé B, Johannes T, Reutershan J, Rothmund A, Haeberle HA, Ploppa A, Schroeder TH, Dieterich HJ. Synthetic colloids attenuate leukocyte-endothelial interactions by inhibition of integrin function. *Anesthesiology*. 2005;103:759-67.
- O'Dea KP, Young AJ, Yamamoto H, Robotham JL, Brennan FM, Takata M. Lung-marginated Monocytes Modulate Pulmonary Microvascular Injury during Early Endotoxemia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:1119-127.
- Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling-regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med*. 2000;28:N3-12.
- Oda J, Ivatury RR, Blocher CR, Malhotra AJ, Sugerman HJ. Amplified cytokine response and lung injury by sequential hemorrhagic shock and abdominal compartment syndrome in a laboratory model of ischemia-reperfusion. *J Trauma*. 2002;52:625-32.
- Ogura H, Tanaka H, Koh T, Hashiguchi N, Kuwagata Y, Hosotsubo H, Shimazu T, Sugimoto H. Priming, second-hit priming, and apoptosis in leukocytes from trauma patients. *J Trauma*. 1999;46:774-81.
- Onoe Y, Miyaura C, Kaminakayashiki T, Nagai Y, Noguchi K, Chen QR, Seo H, Ohta H, Nozawa S, Kudo I, Suda T. IL-13 and IL-4 inhibit bone resorption by suppressing cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin synthesis in osteoblasts. *J Immunol*. 1996;156:758-64.
- Ostrovsky L, King AJ, Bond S, Mitchell D, Lorant DE, Zimmerman GA, Larsen R, Niu XF, Kubes P. A juxtacrine mechanism for neutrophil adhesion on platelets involves platelet-activating factor and a selectin-dependent activation process. *Blood*. 1998;91:3028-36.
- Otsuki DA, Fantoni DT, Margarido CB, Marumo CK, Intelizano T, Pasqualucci CA, Auler Jr JOC. Hydroxyethyl starch is superior to lactated ringer as a replacement fluid in a pig model of acute normovolaemic haemodilution. *Br J Anaesth*. 2007;98:29-37.
- Oz MC, FitzPatrick MF, Zikria BA, Pinsky DJ, Durán WN. Attenuation of microvascular permeability dysfunction in postischemic striated muscle by hydroxyethyl starch. *Microvasc Res*. 1995;50:71-9.

- Park JW, Babior BM. Activation of the leukocyte NADPH oxidase subunit p47phox by protein kinase C. A phosphorylation-dependent change in the conformation of the C-terminal end of p47phox. *Biochemistry*. 1997;36:7474-80.
- Park JW, Hoyal CR, Benna JE, Babior BM. Kinase-dependent activation of the leukocyte NADPH oxidase in a cell-free system. Phosphorylation of membranes and p47(PHOX) during oxidase activation. *J Biol Chem*. 1997;272:11035-43.
- Peillon D, Dubost J, Bienvenu J, Carry PY, Roche C, Breton P, Freidel M, Banssillon V. Acute normovolaemic haemodilution does not reduce the inflammatory process induced by facial surgery. *Can J Anaesth*. 1995;42:305-09.
- Penglis PS, Cleland LG, Demasi M, Caughey GE, James MJ. Differential regulation of prostaglandin E2 and thromboxane A2 production in human monocytes: implications for the use of cyclooxygenase inhibitors. *J Immunol*. 2000;165:1605-11.
- Perret C, Feihl F. Volume expansion during septic shock. *Bull Acad Natl Med*. 2000;184:1621-629.
- Powers KA, Kapus A, Khadaroo RG, He R, Marshall JC, Lindsay TF, Rotstein OD. Twenty-five percent albumin prevents lung injury following shock/resuscitation. *Crit Care Med*. 2003;31:2355-63.
- Powers KA, Zurawska J, Szaszi K, Khadaroo RG, Kapus A, Rotstein OD. Hypertonic resuscitation of hemorrhagic shock prevents alveolar macrophage activation by preventing systemic oxidative stress due to gut ischemia/ reperfusion. *Surgery*. 2005;137:66-74.
- Prins HA, Houdijk AP, Nijveldt RJ, Teerlink T, Huygens P, Thijs LG, van Leeuwen PA. Arginase release from red blood cells: possible link in transfusion induced immune suppression? *Shock*. 2001;16:113-15.
- Purdy FR, Tweeddale MG, Merrick PM. Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients. *Can J Anaesth*. 1997;44:1256-261.
- Rafie AD, Rath PA, Michell MW, Kirschner RA, Deyo DJ, Prough DS, Grady JJ, Kramer GC. Hypotensive resuscitation of multiple hemorrhages using crystalloid and colloids. *Shock*. 2004;22:262-269.
- Raghavan M, Marik PE. Anemia, Allogenic Blood Transfusion, and immunomodulation in the Critically Ill. *Chest*. 2005;127:295-307.

- Raidal SL, Bailey GD, Love DN. Flow cytometric determination of oxidative burst activity of equine peripheral blood and bronchoalveolar lavage-derived leucocytes. *Vet J.* 1998;156:117-26.
- Rajnik M, Salkowski CA, Thomas KE, Li Y-Y, Rollwagen FM, Vogel SN. Induction of early inflammatory gene expression in a murine model of nonresuscitated, fixed-volume hemorrhage. *Shock.* 2002;17:322-28.
- Rhee P, Burris D, Kaufmann C. Lactated Ringer's solution resuscitation causes neutrophil activation after hemorrhagic shock. *J Trauma.* 1998;44:313-19.
- Rhee P, Wang D, Ruff P, Austin B, DeBraux S, Wolcott K, Burris D, Ling G, Sun L. Human neutrophil activation and increased adhesion by various resuscitation fluids. *Crit Care Med.* 2000;28:74-78.
- Ring J, Messmer K. Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet.* 1977;1:466-9.
- Rittoo D, Gosling P, Burnley S, Bonnici C, Millns P, Simms MH, Smith SR, Vohra RK. Randomized study comparing the effects of hydroxyethyl starch solution with Gelofusine on pulmonary function in patients undergoing abdominal aortic aneurysm surgery. *Br J Anaesth.* 2004;92:61-66.
- Rivera-Chavez F, Toledo-Pereyra LH, Nora DT, Bachulis B, Ilgenfritz F, Dean RE. P-selectin blockade is beneficial after uncontrolled hemorrhagic shock. *J. Trauma.* 1998;45:440-45.
- Robinson JP, Bruner LH, Bassoe CF, Hudson JL, Ward PA, Phan SH. Measurement of intracellular fluorescence of human monocytes relative to oxidative metabolism. *J Leukoc Biol.* 1988;43:304-10.
- Roch A, Blayac D, Ramiara P, Chetaille B, Marin V, Michelet P, Lambert D, Papazian L, Auffray JP, Carpentier JP. Comparison of lung injury after normal or small volume optimized resuscitation in a model of hemorrhagic shock. *Intensive Care Med.* 2007;33:1645-654.
- Rossi EC, Simon TB, Moss GS, Gould SA. *Principles of Transfusion Medicine.* 2. ed. Philadelphia : Williams & Wilkins. 1996. p.952-68.
- Roth-Isigkeit A, Borstel TV, Seyfarth M, Schmucker P. Perioperative serum levels of tumour-necrosis-factor alpha (TNF-alpha), IL-1 beta, IL-6, IL-10 and soluble IL-2 receptor in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass without and with correction for haemodilution. *Clin Exp Immunol.* 1999;118:242-46.

- Rothstein DM, Sayegh MH. T-cell costimulatory pathways in allograft rejection and tolerance. *Immunol Rev.* 2003; 196:85–108.
- Rotstein OD: Novel strategies for immunomodulation after trauma: revisiting hypertonic saline as a resuscitation strategy for hemorrhagic shock. *J Trauma.* 2000; 49:580-583.
- Rudloff E, Kirby R. Fluid therapy. Crystalloids and colloids. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1998;28:297-328.
- Salinas G, Rangasetty UC, Uretsky BF, Birnbaum Y. The cyclooxygenase 2 (COX-2) story: it's time to explain, not inflame. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2007;12:98-111.
- Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radical Biol Med.* 2002;33:1173-185.
- Saunders CR, Carlisle L, Bick RL. Hydroxyethyl starch versus albumin in cardiopulmonary bypass prime solutions. *Ann Thorac Surg.* 1983;36:532-39.
- Schmand JF, Ayala A, Morrison MH, Chaudry IH. Effects of hydroxyethyl starch after trauma-hemorrhagic shock: restoration of macrophage integrity and prevention of increased circulating interleukin-6 levels. *Crit Care Med.* 1995;23:806-14.
- Schneider CP, Schwacha MG, Chaudry IH. The role of interleukin-10 in the regulation of the systemic inflammatory response following traumahemorrhage. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1689:22-32.
- Schraufst tter IU, Cochrane CG. Oxidants. types, sources, and mechanisms of injury. In: Crystal RG, West JB. In: *The Lung: Scientific Foundations.* Philadelphia, Raven Publishers, 1997, pp. 2251-2257.
- Schumacher J, Binkowski K, Dendorfer A, Klotz KF. Organ-specific extravasation of albumin-bound Evans blue during nonresuscitated hemorrhagic shock in rats. *Shock.* 2003;20:565-68.
- Senftleben U, Karin M. The IKK/NF-kappa B pathway. *Crit Care Med.* 2002;30:S18-26.
- Shanwell A, Kristiansson M, Remberger M, Ringden O. Generation of cytokines in red cell concentrates during storage is prevented by prestorage white cell reduction. *Transfusion.* 1997;37:678-84.
- Sharma SA, Tummuru MK, Blaser MJ, Kerr LD. Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells. *J Immunol.* 1998;160:2401-407.

- Shi J, Gilbert GE, Kokubo Y, Ohashi T. Role of the liver in regulating numbers of circulating neutrophils. *Blood*. 2001;98:1226-30.
- Shoemaker WC, Schluchter M, Hopkins JA. Fluid therapy in emergency resuscitation: clinical evaluation of colloid and crystalloid regimens. *Crit Care Med*. 1981;9:367-8.
- Shoemaker WC. Diagnosis and treatment of the shock syndromes. In: Shoemaker WC, Ayres S, Grenvik A, Holbrook, P.R., Thompson, W.L. *Textbook of critical care*, 2ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1995. p.85-102.
- Sillett HK, Whicher JT, Trejdowiewicz LK. Effects of resuscitation fluids on T cell immune response. *Br J Anaesth*. 1998;81:242-43.
- Sillett HK, Whicher JT, Trejdsiewicz LK. Effects of resuscitation fluids on nonadaptive immune responses. *Transfusion*. 1997;37:953-59.
- Silliman CC, Voelkel NF, Allard JD, Elzi DJ, Tuder RM, Johnson JL, Ambruso DR. Plasma and lipids from stored packed red blood cells cause acute lung injury in an animal model. *J Clin Invest*. 1998;101:1458-67.
- Simchon S, Jan KM, Chien S. Influence of reduced red cell deformability on regional blood flow. *Am J Physiol*. 1987;253:H898-H903.
- Southcott AM, Hemingway I, Lorimer S, Sugars K, Hellewell PG, Black CM, Jeffery PK, Gearing AJ, Haskard DO, du Bois RM. Adhesion molecule expression in the lung: a comparison between normal and diffuse interstitial lung disease. *Eur Respir J*. 1998;11:91-8.
- Spooner CE, Markowitz NP, Saravolatz LD. The role of tumor necrosis factor in sepsis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1992;62:S11-7.
- Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell*. 1994;76:301-14.
- Stack G, Baril L, Napychank P, Snyder EL. Cytokine generation in stored, white cell-reduced, and bacterially contaminated units of red cells. *Transfusion*. 1995;35:199-203.
- Standiford TJ, Kunkel SL, Lukacs NW, Greenberger MJ, Danforth JM, Kunkel RG, Strieter RM. Macrophage inflammatory protein-1 alpha mediates lung leukocyte recruitment, lung capillary leak, and early mortality in murine endotoxemia. *J Immunol*. 1995;155: 1515-524.

- Stehling L, Zauder H L. Acute normovolemic hemodilution. *Transfusion*. 1991;31:857-68.
- Steinberg J, Halter J, Schiller H, Gatto L, Carney D, Lee HM, Golub L, Nieman G. Chemically modified tetracycline prevents the development of septic shock and acute respiratory distress syndrome in a clinically applicable porcine model. *Shock*. 2005;24:348-56.
- Stephens R, Mythen M. Optimizing intraoperative fluid therapy. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2003;16:385-92.
- Studel W, Kramer H-J, Degner D, Rosseau S, Schutte H, Walmrath D, Seeger W.. Endotoxin priming of thromboxane-related vasoconstrictor responses in perfused rabbit lungs. *J Appl Physiol*. 1997;83:18-24.
- Strauss RG. Review of the effects of hydroxyethyl starch on the blood coagulation system. *Transfusion*. 1981;21:299-02.
- Strauss RG. Volume replacement and coagulation: a comparative review. *J Cardiothorac Anesth*. 1988;2:24-32.
- Stuart J, Nash GB. Red cell deformability and haematological disorders. *Blood Rev*. 1990;4:141-47.
- Taniguchi T, Koido Y, Aiboshi J, Yamashita T, Suzaki S, Kurokawa A. The ratio of interleukin-6 to interleukin-10 correlates with severity in patients with chest and abdominal trauma. *Am J Emerg Med*. 1999;17:548-51.
- Tartter PI, Burrows L, Papatestas AE, Lesnick G, Aufses AH Jr. Perioperative blood transfusion has prognostic significance for breast cancer. *Surgery*. 1985;97:225-30.
- Taylor RW, Manganaro L, O'Brien J, Trottier SJ, Parkar N, Veremakis C. Impact of allogenic packed red blood cell transfusion on nosocomial infection rates in the critically ill patient. *Crit Care Med*. 2002;30:2249-254.
- Thannickal VJ, Fanburg BL: Reactive oxygen species in cell signalling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000;279:L1005-L1028.
- Tian J, Lin X, Guan R, Xu JG. The effects of hydroxyethyl starch on lung capillary permeability in endotoxic rats and possible mechanisms. *Anesth Analg*. 2004;98:768-74.

- Tian J, Lin X, Li YH, Xu JG. Influence of hydroxyethyl starch on lipopolysaccharide-induced tissue nuclear factor kappaB activation and systemic TNF-alpha expression. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2005;49:1311-17.
- Tian J, Lin X, Zhou W, Xu J. Hydroxyethyl starch inhibits NF-kappaB activation and prevents the expression of inflammatory mediators in endotoxic rats. *Ann Clin Lab Sci*. 2003;33:451-58.
- Tizard I.R. *Imunologia Veterinária*, 6 ed. São Paulo, Roca, 2002. 532 p.
- Tolksdorf B, Frietsch T, Quintel M, Kirschfink M, Becker P, Lorentz A. Humoral immune response to autologous blood transfusion in hip surgery: whole blood versus packed red cells and plasma. *Vox Sang*. 2001;81:180-6.
- Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420:853-9.
- Treib J, Baron JF, Grauer MT, Strauss RG. An international view of hydroxyethyl starches. *Intensive Care Med*. 1999;25:258-68.
- Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Wenzel E, Schimrigk K. All medium starches are not the same. Influence of degree of substitution of hydroxyethyl starch on plasma volume, hemorheologic conditions, and coagulation. *Transfusion*. 1996^a;36:450-55.
- Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Seyfert UT, Treib W, Wenzel E, Schimrigk K. Influence of low molecular weight hydroxyethyl starch on hemostasis and hemorheology. *Haemostasis*. 1996^b;26:258-65.
- Tsukada K, Hasegawa T, Tsutsumi S, Kuwano H. Roles of cyclooxygenase-2 in tissue injury during hemorrhagic shock. *Shock*. 2000;13:392-96.
- Uhlig S, Nusing R, Bethmann AV, Featherstone RL, Klein T, Brasch F, Muller KM, Ullrich V, Wendel A. 1996. Cyclooxygenase-2-dependent bronchoconstriction in perfused rat lungs exposed to endotoxin. *Mol Med*. 1996;2:373-83.
- Ulloa L, Tracey KJ. The "cytokine profile": a code for sepsis. *Trends Mol Med*. 2005;11:56-63.
- Vamvakas EC, Carven JH. Transfusion and postoperative pneumonia in coronary artery bypass graft surgery: effect of the length of storage of transfused red cells. *Transfusion*. 1999;39:701-10.
- Vamvakas EC. Meta-analysis of randomized controlled trials investigating the risk of postoperative infection in association with white blood cell-containing allogeneic blood transfusion: the effects of the type of transfused red blood cell product and surgical setting. *Transfus Med Rev*. 2002;16:304-14.

- Vamvakas EC. WBC-containing allogeneic blood transfusion and mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transfusion*. 2003;43:963-73.
- Vamvakas EC. White-blood-cell-containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: an updated meta-analysis. *Vox Sang*. 2007;92:224-32.
- Van der Linden P, De Hert S, Mathieu N, Degroote F, Schmartz D, Zhang H, Vincent JL. Tolerance to acute isovolemic hemodilution. Effect of anesthetic depth. *Anesthesiology*. 2003;99:97-104.
- Van der Linden P, Schmartz D, De Groote F, Mathieu N, Willaert P, Rausin I, Vincent JL. Critical haemoglobin concentration in anaesthetized dogs: comparison of two plasma substitutes. *Br J Anaesth*. 1998;81:556-62.
- van Rees BP, Saukkonen K, Ristimäki A, Polkowski W, Tytgat GN, Drillenburger P, Offerhaus GJ. Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach. *J Pathol*. 2002;196:171-9.
- Van Woerkens EC, Trouwborst A, van Lanschot JJ. Profound hemodilution: what is the critical level of hemodilution at which oxygen delivery-dependent oxygen consumption starts in an anesthetized human? *Anesth Analg*. 1992;75:818-21.
- VanOtteren GM, Strieter RM, Kunkel SL, Paine R III, Greenberger MJ, Danforth JM, Burdick MD, Standiford TJ. Compartmentalized expression of RANTES in a murine model of endotoxemia. *J Immunol*. 1995;154:1900-908.
- Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev*. 1999;79:181-213.
- Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, Gattinoni L, Thijs L, Webb A, Meier-Hellmann A, Nollet G, Peres-Bota D; ABC (Anemia and Blood Transfusion in Critical Care) Investigators. Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002;288:1499-507.
- Wagner JG, Harkema JR, Roth RA. Pulmonary leukostasis and the inhibition of airway neutrophil recruitment are early events in the endotoxemic rat. *Shock*. 2002;17:151-8.
- Walley KR, McDonald TE, Higashimoto Y, Hayashi S. Modulation of proinflammatory cytokines by nitric oxide in murine acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:698-704.
- Wang J, Mao B, Chen Z. The effect of cyclooxygenase-2 inhibitor on acute lung injury. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 1999;22:351-3.

- Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000;342:1334-49.
- Warner AE, DeCampMMJr, Molina RM, Brain JD. Pulmonary removal of circulating endotoxin results in acute lung injury in sheep. *Lab Invest.* 1988;59:219-30.
- Warner AE. Pulmonary intravascular macrophages: role in acute lung injury. *Clin Chest Med.* 1996;17:125-35.
- Watters JM, Brundage SI, Todd R, Zautke NA, Stefater JA, Lam JC, Muller PJ, Malinoski D, Schreiber MA. Resuscitation with lactated ringer's does not increase inflammatory response in a swine model of uncontrolled hemorrhagic shock. *Shock.* 2004;22:283-87.
- Waxman K: Shock, ischemia, reperfusion, and inflammation. *New Horiz* 1996^a;4:153-60.
- Waxman K: What mediates tissue injury after shock. *New Horiz* 1996^b;4:151-53.
- Webel D M, Finck B N, Baker D H, Johnson R W. Time course of increased plasma cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs. following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. *J Anim Sci.* 1997;75:1514-520.
- Weisbach V, Wanke C, Zingsem J, Zimmermann R, Eckstein R. Cytokine generation in whole blood, leukocyte-depleted and temporarily warmed red blood cell concentrates. *Vox Sang.* 1999;76:100-06.
- Weiskopf RB, Feiner J, Hopf H, Viele MK, Watson JJ, Lieberman J, Kelley S, Toy P. Heart rate increases linearly in response to acute isovolemic anemia. *Transfusion.* 2003;43:235-40.
- Welters ID, Spangenberg U, Menzebach A, Engel J, Menges T, Langefeld TW, Hempelmann G. Der Einfluss verschiedener Volumenersatzmittel auf die Funktion von neutrophilen Granulozyten in vitro. *Anaesthesist* 2000;49:196-201.
- Wenisch C, Parschalk B, Patruta S, Brustbauer R, Graninger W. Effect of polyclonal immunoglobulins on neutrophil phagocytic capacity and reactive oxygen production in patients with gram-negative septicemia. *Infection.* 1999;27:183-86.
- Wheeler AP, Bernard GR. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: a clinical review. *Lancet.* 2007;369:1553-64.
- Whinney RR, Cohn SM, Zacur SJ. Fluid resuscitation for trauma patients in the 21st century. *Curr Opin Crit Care.* 2000;6:395-400.

- Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, Gattinoni L, Thijs L, Webb A, Meier-Hellmann A, Nollet G, Peres-Bota D, Investigators ABC. Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002;288:1499-507.
- Windsor AC, Mullen PG, Fowler AA, Sugerman HJ. Role of the neutrophil in adult respiratory distress syndrome. *Br J Surg*. 1993;80:10-7.
- Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest*. 2000; 80:617-53.
- Wolowczyk L, Nevin M, Day A, Smith FCT, Baird RN, Lamont PM. The Effect of Acute Normovolaemic Haemodilution on the Inflammatory Response and Clinical Outcome in Abdominal Aortic Aneurysm Repair - Results of a Pilot Trial. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005;30:12-9.
- Wright JG, Christman JW. The role of nuclear factor kappa B in the pathogenesis of pulmonary diseases: implications for therapy. *Am J Respir Med*. 2003;2:211-19.
- Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK: IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest*. 1998;101:311-20.
- Xu DZ, Lu Q, Adams CA, Issekutz AC, Deitch EA. Trauma-hemorrhagic shock-induced up-regulation of endothelial cell adhesion molecules is blunted by mesenteric lymph duct ligation. *Crit Care Med*. 2004;32:760-65.
- Ye F, Wu J, Dunn T, Yi J, Tong X, Zhang D. Inhibition of cyclooxygenase-2 activity in head and neck cancer cells by genistein. *Cancer Lett*. 2004;211:39-46.
- Yoshidome H, Kato A, Miyazaki M, Edwards MJ, Lentsch AB. IL-13 activates STAT6 and inhibits liver injury induced by ischemia/reperfusion. *Am J Pathol*. 1999;155:1059-64.
- Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffl WL, Silliman CC. Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA2. *Shock*. 2000;13:29-33.
- Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, Denny C, Silliman CC. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am J Surg*. 1999;178:570-72.
- Zhang H, Voglis S, Kim CH, Slutsky AS. Effects of albumin and Ringer's lactate on production of lung cytokines and hydrogen peroxide after resuscitated hemorrhage and endotoxemia in rats. *Crit Care Med*. 2003;31:1515-22.

Zhang P, Summer WR, Bagby GJ, Nelson S. Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol Rev.* 2000;173:39-51.

Zikria BA, Subbarao C, Oz MC, Popilkis SJ, Sachdev R, Chauhan P, Freeman HP, King TC. Hydroxyethyl starch macromolecules reduce myocardial reperfusion injury. *Arch Surg.* 1990;125:930-4.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Valores individuais de peso e balanço hídrico dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Peso (Kg)	Sangue Retirado (ml)	Volume (ml)	Volume Manutenção (ml)	Débito Urinário
Controle					
1	33,0			972,3	240,0
2	28,5			908,5	200,0
3	31,2			947,6	320,0
4	31,6			953,0	340,0
5	32,1			961,6	600,0
6	28,3			905,0	400,0
7	31,5			962,0	350,0
Média	30,9			944,3	350,0
DP	1,8			26,8	129,5
HNA+Amido					
1	33,0	1500,0	1500,0	928,0	1100,0
2	32,8	1500,0	1500,0	854,6	1900,0
3	30,2	1500,0	1500,0	1034,0	400,0
4	37,0	1500,0	1500,0	1034,8	540,0
5	30,0	1500,0	1500,0	681,4	390,0
6	33,1	1500,0	1500,0	1025,0	610,0
7	29,5	1770,0	1770,0	1120,0	700,0
Média	32,2	1538,6	1538,6	954,0	805,7
DP	2,6	102,1	102,1	147,4	538,8
HNA+NaCl					
1	33,3	1500,0	4500,0	1095,6	1800,0
2	29,9	1000,0	3000,0	928,9	440,0
3	31,7	1500,0	4500,0	758,9	900,0
4	28,0	1500,0	4500,0	1279,2	1180,0
5	34,0	2000,0	6000,0	1078,2	2540,0
6	32,8	2000,0	6000,0	1060,0	2600,0
7	34,5	2100,0	6300,0	1052,0	4160,0
Média	32,0	1657,1	4971,4	1036,1	1945,7
DP	2,3	395,2	1185,6	160,0	1268,4
HNA+Gel					
1	30,3	1500,0	1500,0	1100,0	340,0
2	30,8	1500,0	1500,0	1000,0	340,0
3	27,8	1500,0	1500,0	1015,2	540,0
4	29,5	1500,0	1500,0	1062,7	900,0
5	34,2	1700,0	1700,0	1096,1	600,0
6	31,6	1900,0	1900,0	1112,0	400,0
7	31,0	1800,0	1800,0	1024,0	480,0
Média	30,7	1628,6	1628,6	1058,6	514,3
DP	2,0	170,4	170,4	45,7	196,5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE B – Valores individuais de frequência cardíaca (bpm) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle	125	134	131	119	144	118
1	88	89	100	104	100	89
2	131	131	123	123	120	134
3	99	105	108	101	112	118
4	135	92	138	148	153	161
5	118	89	93	93	102	96
6	110	118	116	122	111	116
7	115	108	116	116	120	119
Média	115	108	116	116	120	119
DP	17	20	16	18	21	24
HNA+Amido						
1	110	137	132	130	141	125
2	101	102	99	95	93	90
3	99	119	119	109	136	123
4	130	156	120	140	146	113
5	121	144	157	107	114	140
6	150	175	163	134	141	142
7	99	157	154	155	156	144
Média	116	141	135	124	132	125
DP	19	25	24	21	22	19
HNA+NaCl						
1	86	123	109	117	103	101
2	134	148	147	134	148	133
3	87	103	103	98	97	89
4	103	155	192	245	188	212
5	106	165	149	149	145	123
6	110	102	99	112	111	109
7	138	149	176	203	162	168
Média	109	135	139	151	136	134
DP	21	26	37	54	34	43
HNA+Gel						
1	80	111	116	136	116	110
2	156	190	190	202	177	166
3	127	169	141	146	160	161
4	169	197	180	160	182	179
5	124	170	152	122	143	136
6	123	156	141	154	147	126
7	120	153	138	150	144	122
Média	128	164	151	153	153	143
DP	29	28	26	25	23	26

DP: desvio-padrão

APÊNDICE C – Valores individuais de pressão arterial sistólica (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	98	101	97	105	110	102
2	100	102	108	112	120	106
3	86	92	87	96	92	100
4	93	97	101	102	111	113
5	136	136	127	123	127	134
6	112	119	116	121	117	123
7	98	106	124	114	104	112
Média	103	108	109	110	112	113
DP	16	15	15	10	11	12
HNA+Amido						
1	94	111	78	80	119	118
2	85	109	79	87	114	110
3	99	127	107	105	126	119
4	89	103	93	84	111	103
5	98	115	117	111	124	114
6	122	137	127	119	123	108
7	124	143	115	105	128	132
Média	102	121	102	99	121	115
DP	15	15	19	15	6	9
HNA+NaCl						
1	100	100	100	104	123	109
2	114	113	120	110	127	136
3	126	119	108	124	142	145
4	90	91	100	100	113	109
5	110	112	96	102	145	127
6	104	110	94	92	130	128
7	108	85	87	109	131	130
Média	107	104	101	106	130	126
DP	11	13	11	10	11	13
HNA+Gel						
1	96	110	87	77	109	104
2	88	140	110	135	130	125
3	135	129	112	120	147	160
4	100	118	111	102	123	128
5	123	140	125	124	131	131
6	91	101	91	110	120	125
7	90	99	89	108	116	121
Média	103	120	104	111	125	128
DP	18	17	15	19	12	17

DP: desvio-padrão

APÊNDICE D – Valores individuais de pressão arterial diastólica (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	57	59	55	64	64	58
2	58	59	65	70	83	69
3	55	62	58	68	62	66
4	67	74	74	73	84	84
5	81	80	75	78	90	90
6	67	74	69	78	78	82
7	56	63	74	68	61	65
Média	63	67	67	71	75	73
DP	9	9	8	5	12	12
HNA+Amido						
1	59	73	46	48	89	86
2	56	74	50	54	81	76
3	59	88	77	66	96	85
4	53	58	50	48	68	60
5	65	75	83	78	90	80
6	84	89	89	79	83	87
7	80	92	70	60	79	78
Média	65	78	66	62	84	79
DP	12	12	18	13	9	9
HNA+NaCl						
1	65	63	64	72	91	83
2	62	60	66	59	75	85
3	69	70	59	70	91	92
4	60	51	54	55	68	62
5	81	62	58	63	103	87
6	57	64	52	50	86	79
7	64	52	53	64	85	80
Média	65	60	58	62	86	81
DP	8	7	5	8	11	10
HNA+Gel						
1	60	78	53	43	78	70
2	61	90	69	93	89	88
3	88	76	64	67	94	103
4	68	76	70	63	81	85
5	69	81	70	74	83	84
6	55	60	52	65	77	88
7	52	56	50	63	72	86
Média	65	74	61	67	82	86
DP	12	12	9	15	7	10

DP: desvio-padrão

APÊNDICE E – Valores individuais de pressão arterial média dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	73	76	72	80	83	75
2	75	76	84	87	98	85
3	67	75	71	79	75	81
4	78	84	85	85	96	96
5	102	103	97	96	105	108
6	84	92	87	96	93	99
7	73	80	90	86	78	83
Média	79	84	84	87	90	90
DP	11	10	9	7	11	12
HNA+Amido						
1	73	90	61	63	101	98
2	67	89	61	67	95	91
3	73	103	88	80	108	98
4	67	79	67	64	86	78
5	78	95	96	92	105	95
6	100	112	107	97	103	98
7	98	116	90	80	100	98
Média	79	98	81	78	100	94
DP	14	13	18	14	7	7
HNA+NaCl						
1	79	79	79	86	105	94
2	82	84	89	79	97	104
3	89	89	78	91	110	111
4	73	71	74	72	90	83
5	91	82	72	78	121	104
6	76	83	69	67	104	99
7	83	68	70	82	106	101
Média	82	79	76	79	105	99
DP	7	7	7	8	10	9
HNA+Gel						
1	74	93	68	60	92	85
2	74	114	89	112	107	104
3	106	99	84	88	115	122
4	84	94	90	81	100	104
5	92	108	94	95	104	104
6	70	79	70	85	96	102
7	66	75	67	82	94	100
Média	81	95	80	86	101	103
DP	14	14	12	16	8	11

DP: desvio-padrão

APÊNDICE F – Valores individuais de Pressão Venosa Central (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	5	5	5	5	5	6
2	5	6	7	6	6	6
3	3	2	2	2	2	2
4	4	4	4	4	3	7
5	5	5	6	5	7	6
6	4	3	5	6	6	6
7	4	4	5	5	5	5
Média	4	4	5	5	5	5
DP	1	1	2	1	2	2
HNA+Amido						
1	4	4	0	2	5	5
2	3	4	2	4	5	4
3	5	8	5	5	7	8
4	6	8	6	5	7	6
5	7	9	7	7	8	9
6	7	11	8	7	11	10
7	2	6	3	2	5	4
Média	5	7	4	5	7	7
DP						
HNA+NaCl						
1	5	6	4	5	8	6
2	6	7	6	7	8	8
3	3	5	4	3	7	6
4	0	2	0	2	7	6
5	5	7	2	7	8	8
6	4	6	4	3	5	4
7	3	4	3	5	7	7
Média	4	5	3	5	7	6
DP	2	2	2	2	1	1
HNA+Gel						
1	5	7	4	4	8	7
2	6	7	6	6	8	8
3	3	4	3	3	7	5
4	3	7	5	5	8	7
5	6	7	5	6	10	8
6	7	7	7	7	10	12
7	5	7	6	6	9	10
Média	5	7	5	5	9	8
DP	2	1	1	1	1	2

DP: desvio-padrão

APÊNDICE G – Valores individuais de Pressão de Artéria Pulmonar (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	16	17	17	17	18	17
2	15	15	16	16	17	17
3	13	13	13	14	13	13
4	13	14	15	15	15	20
5	17	17	17	16	19	19
6	14	13	16	15	14	16
7	15	15	18	19	16	20
Média	15	15	16	16	16	17
DP	1	2	2	2	2	3
HNA+Amido						
1	18	20	13	16	19	18
2	12	13	6	10	14	14
3	11	14	9	11	18	15
4	17	20	16	14	21	17
5	17	25	18	19	23	25
6	19	25	20	20	24	23
7	17	24	15	16	23	21
Média	16	20	14	15	20	19
DP	3	5	5	4	4	4
HNA+NaCl						
1	13	17	15	15	30	23
2	18	20	19	18	20	21
3	11	14	14	16	20	19
4	11	22	16	19	26	26
5	17	28	20	21	26	26
6	15	35	12	14	19	17
7	17	17	13	17	23	29
Média	15	22	16	17	23	23
DP	3	7	3	2	4	4
HNA+Gel						
1	17	20	15	14	21	20
2	16	21	21	20	26	23
3	14	15	13	14	25	20
4	14	23	20	17	27	22
5	19	21	18	18	27	25
6	17	18	17	20	26	45
7	15	17	15	18	25	36
Média	16	19	17	17	25	27
DP	2	3	3	2	2	10

DP: desvio-padrão

APÊNDICE H – Valores individuais Pressão de Oclusão da Artéria Pulmonar (mmhg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	8	9	9	7	6	8
2	8	8	10	8	7	8
3	5	6	5	6	4	4
4	6	5	5	5	5	7
5	6	6	7	6	6	8
6	5	6	8	8	7	8
7	7	8	6	7	4	5
Média	6	7	7	7	6	7
DP	1	1	2	1	1	2
HNA+Amido						
1	10	10	7	8	8	9
2	4	8	3	6	9	8
3	6	9	6	6	9	9
4	9	11	10	7	9	8
5	7	11	8	9	11	10
6	11	15	13	10	12	12
7	5	10	5	5	7	6
Média	7	11	7	7	9	9
DP	3	2	3	2	2	2
HNA+NaCl						
1	7	10	7	9	10	8
2	8	8	7	8	7	10
3	4	7	6	5	10	9
4	6	10	10	6	12	8
5	9	9	7	8	14	10
6	7	11	7	5	9	8
7	5	6	7	6	8	11
Média	7	9	7	7	10	9
DP	2	2	1	2	2	1
HNA+Gel						
1	8	13	6	5	12	9
2	8	12	8	8	13	12
3	6	6	4	5	10	7
4	7	10	12	9	10	10
5	9	9	7	7	12	10
6	9	8	8	10	15	20
7	8	7	7	9	14	19
Média	8	9	7	8	12	12
DP	1	3	2	2	2	5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE I – Valores individuais de Débito Cardíaco ($L \cdot \text{min}^{-1}$) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	4,6	5,7	5,7	5,5	6,1	5,8
2	4,5	4,1	4,9	4,9	4,1	3,8
3	4,7	4,8	4,3	4,5	5,1	6,1
4	4,5	5,5	5,5	4,3	5,2	3,2
5	6,0	6,3	6,2	5,9	5,9	5,9
6	3,9	3,8	3,9	3,9	3,8	4,5
7	4,0	4,3	4,3	4,9	4,4	4,6
Média	4,6	4,9	5,0	4,8	4,9	4,8
DP	0,7	0,9	0,9	0,7	0,9	1,1
HNA+Amido						
1	4,9	6,9	4,4	6,4	7,5	6,2
2	3,2	4,7	3,9	4,3	4,2	3,7
3	3,9	6,4	5,2	4,8	7,1	6,1
4	4,2	6,8	4,8	4,1	6,3	5,3
5	3,1	6,4	4,6	3,4	5,9	5,7
6	4,7	7,7	6,3	5,3	6,2	5,2
7	3,7	7,4	6,0	5,5	7,7	6,2
Média	4,0	6,6	5,0	4,8	6,4	5,5
DP	0,7	1,0	0,9	1,0	1,2	0,9
	4,9	6,9	4,4	6,4	7,5	6,2
HNA+NaCl						
1	3,9	5,4	4,3	4,7	5,3	4,0
2	6,6	8,3	7,5	6,1	7,4	7,7
3	4,1	5,1	4,1	4,0	4,1	3,4
4	3,8	6,9	5,7	5,6	8,4	8,2
5	3,8	6,3	4,8	5,0	6,9	6,2
6	6,9	6,1	4,4	4,3	6,8	7,1
7	6,1	6,8	5,5	5,7	8,3	8,9
Média	5,0	6,4	5,2	5,1	6,7	6,5
DP	1,4	1,1	1,2	0,8	1,6	2,1
HNA+Gel						
1	3,5	5,5	5,7	5,7	5,9	6,1
2	5,0	7,0	6,0	5,9	7,9	6,9
3	4,8	6,3	5,0	5,5	7,9	6,9
4	6,5	7,5	6,7	5,9	8,5	7,7
5	7,0	8,8	7,5	5,1	6,8	7,5
6	4,3	6,5	6,3	4,4	7,1	4,7
7	4,1	6,3	6,0	4,1	6,9	6,1
Média	5,0	6,8	6,2	5,2	7,3	6,6
DP	1,3	1,1	0,8	0,7	0,9	1,0

DP: desvio-padrão

APÊNDICE J – Valores individuais de Índice Cardíaco ($L \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^2$) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	5,0	6,2	6,2	6,0	6,7	6,3
2	5,4	5,0	5,9	5,9	4,9	4,6
3	5,2	5,4	4,9	5,0	5,7	6,8
4	5,0	6,2	6,2	4,8	5,9	3,6
5	6,5	6,8	6,7	6,3	6,3	6,4
6	4,7	4,6	4,7	4,8	4,6	5,5
7	4,5	4,8	4,8	5,5	5,0	5,2
Média	5,2	5,6	5,6	5,5	5,6	5,5
DP	0,7	0,8	0,8	0,6	0,8	1,1
HNA+Amido						
1	5,2	7,5	4,7	6,8	8,0	6,7
2	4,5	5,1	4,2	4,7	4,6	4,0
3	4,5	7,3	6,0	5,5	8,1	7,0
4	4,2	6,9	4,9	4,1	6,3	5,4
5	4,5	7,1	5,1	3,8	6,5	6,3
6	5,1	8,4	6,9	5,8	6,7	5,7
7	4,3	8,7	7,1	6,4	9,1	7,2
Média	4,6	7,3	5,6	5,3	7,0	6,0
DP	0,4	1,2	1,1	1,1	1,5	1,1
HNA+NaCl						
1	4,1	5,8	4,7	5,0	5,7	4,3
2	5,6	9,5	8,6	7,1	8,5	8,9
3	4,5	5,6	4,6	4,4	4,6	3,8
4	4,7	8,4	7,0	6,8	10,2	10,0
5	4,0	6,7	5,1	5,3	7,3	6,6
6	5,5	6,7	4,8	4,7	7,4	7,7
7	6,5	7,1	5,8	6,0	8,8	9,4
Média	5,0	7,1	5,8	5,6	7,5	7,2
DP	0,9	1,4	1,5	1,0	1,9	2,5
HNA+Gel						
1	4,1	6,3	6,6	6,6	6,8	7,0
2	5,6	8,0	6,8	6,7	8,9	7,9
3	5,8	7,7	6,1	6,7	9,6	8,4
4	5,6	8,7	7,8	6,9	9,9	8,9
5	5,5	9,3	8,0	5,4	7,3	8,0
6	4,8	7,2	7,0	4,9	7,9	5,2
7	4,6	7,0	6,8	4,7	7,7	7,0
Média	5,1	7,7	7,0	6,0	8,3	7,5
DP	0,6	1,0	0,7	0,9	1,2	1,2

DP: desvio-padrão

APÊNDICE K – Valores individuais de Índice de Resistência Vascular Sistêmica ($\text{dinas.s.cm}^{-5} \cdot \text{m}^{-2}$) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	1087	921	869	1001	937	875
2	1029	1129	1039	1093	1491	1367
3	977	1088	1135	1221	1028	929
4	1197	1039	1041	1354	1266	1981
5	1202	1150	1092	1155	1238	1283
6	1366	1552	1386	1516	1526	1364
7	1234	1279	1403	1187	1175	1206
Média	1156	1165	1138	1218	1237	1286
DP	133	202	194	171	218	365
HNA+Amido						
1	1056	923	1028	714	955	1118
2	1140	1341	1123	1079	1560	1748
3	1221	1028	1102	1090	996	1031
4	1150	822	1003	1153	997	1075
5	1260	973	1385	1790	1193	1089
6	1456	964	1148	1247	1095	1239
7	1796	1016	981	972	837	1038
Média	1297	1010	1110	1149	1090	1191
DP	254	161	137	329	235	255
HNA+NaCl						
1	1430	1011	1288	1293	1386	1656
2	1085	648	774	816	841	864
3	1514	1191	1296	1589	1796	2207
4	1254	657	848	822	640	618
5	1720	896	1098	1063	1238	1160
6	1050	923	1082	1092	1072	989
7	989	720	920	1024	904	799
Média	1292	864	1044	1100	1125	1185
DP	273	201	206	271	387	560
HNA+Gel						
1	1363	1088	781	682	991	886
2	964	1079	978	1260	886	976
3	1413	985	1065	1019	901	1116
4	1160	803	869	885	745	868
5	1250	867	894	1315	1035	961
6	1056	795	722	1281	873	1386
7	1050	789	718	1276	869	1371
Média	1179	915	861	1103	900	1081
DP	169	133	131	246	93	219

DP: desvio-padrão

APÊNDICE L – Valores individuais de Índice de Resistência Vascular Pulmonar ($\text{dinas.s.cm}^{-5} \cdot \text{m}^{-2}$) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	128	104	104	134	144	114
2	103	113	81	108	162	156
3	122	104	132	127	127	106
4	112	117	129	167	136	121
5	136	129	120	127	164	138
6	154	122	135	118	123	117
7	143	117	198	176	193	232
Média	128	115	128	137	150	141
DP	18	9	36	25	25	44
HNA+Amido						
1	122	107	101	94	109	108
2	185	79	57	68	87	121
3	90	55	40	73	89	69
4	151	104	99	137	151	134
5	229	158	156	211	148	190
6	125	95	91	139	143	155
7	222	129	113	137	141	166
Média	161	104	94	123	124	135
DP	53	33	38	50	28	40
HNA+NaCl						
1	116	97	137	96	283	282
2	106	101	112	113	123	99
3	123	99	140	199	174	210
4	86	114	69	153	109	144
5	160	227	204	195	131	193
6	86	288	83	154	108	94
7	148	124	82	146	137	153
Média	118	150	118	151	152	168
DP	29	76	47	38	62	66
HNA+Gel						
1	178	89	110	110	106	125
2	113	90	153	143	116	112
3	110	93	118	108	125	219
4	74	120	82	93	138	107
5	96	103	110	163	165	150
6	134	110	103	164	112	385
7	129	107	100	158	108	185
Média	119	102	111	134	124	183
DP	33	12	22	30	21	98

DP: desvio-padrão

APÊNDICE M – Valores individuais de pH do sangue arterial dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	7,46	7,46	7,45	7,46	7,44	7,46
2	7,44	7,41	7,42	7,44	7,47	7,45
3	7,42	7,42	7,46	7,46	7,45	7,47
4	7,53	7,52	7,51	7,54	7,52	7,53
5	7,44	7,44	7,44	7,43	7,44	7,46
6	7,39	7,39	7,42	7,46	7,46	7,47
7	7,49	7,48	7,47	7,46	7,46	7,47
Média	7,45	7,45	7,45	7,46	7,46	7,47
DP	0,05	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03
HNA+Amido						
1	7,40	7,38	7,38	7,38	7,40	7,41
2	7,42	7,43	7,45	7,46	7,49	7,50
3	7,41	7,42	7,44	7,46	7,48	7,53
4	7,43	7,42	7,45	7,46	7,46	7,49
5	7,42	7,42	7,47	7,44	7,45	7,47
6	7,42	7,41	7,43	7,43	7,45	7,47
7	7,45	7,39	7,39	7,41	7,43	7,42
Média	7,42	7,41	7,43	7,43	7,45	7,47
DP	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,04
HNA+NaCl						
1	7,40	7,26	7,33	7,34	7,32	7,32
2	7,39	7,35	7,36	7,39	7,44	7,43
3	7,40	7,32	7,32	7,31	7,38	7,40
4	7,42	7,24	7,25	7,18	7,26	7,30
5	7,40	7,22	7,26	7,31	7,32	7,36
6	7,46	7,28	7,34	7,36	7,42	7,44
7	7,49	7,34	7,39	7,40	7,45	7,39
Média	7,42	7,29	7,32	7,33	7,37	7,38
DP	0,04	0,05	0,05	0,07	0,07	0,05
HNA+Gel						
1	7,49	7,46	7,50	7,46	7,50	7,53
2	7,38	7,37	7,38	7,43	7,44	7,47
3	7,43	7,42	7,43	7,40	7,44	7,39
4	7,44	7,42	7,44	7,44	7,45	7,49
5	7,41	7,38	7,41	7,42	7,44	7,46
6	7,49	7,48	7,48	7,46	7,49	7,50
7	7,48	7,46	7,46	7,46	7,48	7,48
Média	7,44	7,43	7,44	7,44	7,46	7,47
DP	0,04	0,04	0,04	0,02	0,03	0,04

DP: desvio-padrão

APÊNDICE N – Valores individuais de Pressão Parcial de Oxigênio no sangue arterial (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	219	199	210	205	191	206
2	149	192	174	166	187	188
3	137	141	165	153	151	157
4	185	163	171	158	142	148
5	213	213	204	204	195	208
6	155	186	178	172	194	190
7	214	203	212	217	208	187
Média	182	185	188	182	181	183
DP	34	25	20	26	25	23
	219	199	210	205	191	206
HNA+Amido						
1	194	216	194	212	200	216
2	199	277	211	203	198	201
3	233	258	232	232	214	226
4	155	191	186	191	166	150
5	174	226	211	206	160	158
6	196	215	206	205	156	161
7	144	186	153	184	117	114
Média	185	224	199	205	173	175
DP	30	33	25	15	33	40
HNA+NaCl						
1	169	168	171	172	104	106
2	188	236	226	226	195	227
3	171	127	136	138	117	106
4	216	130	157	129	111	103
5	212	137	192	178	97	106
6	169	114	150	165	137	136
7	194	150	176	199	134	140
Média	188	152	173	172	128	132
DP	20	41	30	34	33	45
HNA+Gel						
1	195	205	186	194	166	153
2	195	212	207	203	182	183
3	193	193	187	188	108	87
4	177	179	185	191	155	148
5	191	211	212	221	175	165
6	207	237	240	212	203	221
7	206	212	224	215	206	212
Média	195	207	206	203	171	167
DP	10	18	21	13	33	45

DP: desvio-padrão

APÊNDICE O – Valores individuais da relação PaO₂/FiO₂ dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	438	397	419	410	381	412
2	297	385	349	333	374	376
3	274	281	330	305	302	315
4	369	325	342	317	285	295
5	425	425	408	409	391	415
6	311	371	356	343	387	379
7	427	407	425	433	416	373
Média	363	370	376	364	362	366
DP	69	50	40	52	49	46
HNA+Amido						
1	388	432	388	425	399	433
2	399	555	421	406	395	402
3	466	516	464	464	429	451
4	310	381	372	382	332	300
5	349	453	422	412	319	316
6	392	431	413	410	312	323
7	288	372	306	368	234	228
Média	370	449	398	410	346	350
DP	60	67	50	31	67	81
HNA+NaCl						
1	338	337	342	344	207	213
2	375	472	452	452	389	455
3	342	253	272	275	233	212
4	432	260	313	257	222	207
5	424	273	383	357	195	211
6	338	227	301	331	274	271
7	388	300	352	397	268	280
Média	377	303	345	345	255	264
DP	40	82	59	67	66	90
HNA+Gel						
1	390	411	372	388	333	306
2	389	423	414	406	365	366
3	386	385	373	376	217	174
4	354	358	371	381	309	296
5	383	422	424	441	349	329
6	414	474	481	424	406	441
7	412	424	447	431	412	425
Média	390	414	412	407	341	334
DP	20	36	43	26	66	90

DP: desvio-padrão

APÊNDICE P – Valores individuais da Pressão Parcial de Gás Carbônico no sangue arterial (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	41	41	41	42	41	42
2	41	43	44	44	40	42
3	44	45	41	40	42	40
4	34	34	35	31	33	34
5	43	44	43	45	44	43
6	42	43	40	38	39	38
7	37	39	40	42	40	40
Média	40	41	41	40	40	40
DP	3	4	3	4	3	3
HNA+Amido						
1	44	42	42	41	42	42
2	41	38	38	39	40	37
3	40	39	37	35	37	33
4	40	42	39	39	40	38
5	42	38	36	39	40	39
6	47	44	46	46	44	46
7	46	45	43	44	45	46
Média	43	41	40	40	41	40
DP	3	3	4	4	3	5
HNA+NaCl						
1	39	43	38	39	44	46
2	45	40	41	40	36	38
3	45	42	44	50	46	42
4	42	47	41	42	42	44
5	42	40	36	32	33	44
6	42	45	41	40	42	40
7	37	39	35	39	39	46
Média	42	42	39	40	40	43
DP	3	3	3	5	4	3
HNA+Gel						
1	37	36	36	38	37	35
2	43	42	44	40	44	39
3	41	38	37	43	44	49
4	42	40	39	43	43	40
5	48	45	44	46	45	42
6	35	36	37	39	39	37
7	35	35	35	36	38	37
Média	40	39	39	41	41	40
DP	5	4	4	4	3	5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE Q – Valores individuais de Saturação de Oxigênio no sangue arterial (%) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	100	100	100	100	100	99
2	100	100	100	95	96	96
3	97	95	95	99	100	100
4	100	100	100	100	100	100
5	96	97	98	98	96	96
6	98	97	96	95	96	95
7	100	100	100	100	100	100
Média	99	98	98	98	98	98
DP	2	2	2	2	2	2
HNA+Amido						
1	96	100	100	100	96	98
2	100	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	100	100
4	97	98	96	100	96	97
5	97	100	99	95	94	100
6	100	99	98	100	100	100
7	100	99	100	100	99	97
Média	99	99	99	99	98	99
DP	2	1	2	2	2	1
HNA+NaCl						
1	96	100	97	100	96	96
2	99	98	95	95	96	96
3	99	99	98	100	94	95
4	100	98	99	100	97	100
5	100	100	98	97	100	100
6	96	95	94	96	95	96
7	98	100	100	100	97	96
Média	98	99	97	98	96	97
DP	2	2	2	2	2	2
HNA+Gel						
1	96	97	98	98	96	95
2	100	95	95	94	94	95
3	98	100	100	100	98	98
4	96	97	99	100	95	95
5	100	96	96	95	96	97
6	95	97	100	96	95	95
7	96	97	99	97	96	98
Média	97	97	98	97	96	96
DP	2	2	2	2	1	1

DP: desvio-padrão

APÊNDICE R – Valores individuais de pH do sangue venoso misto dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	7,41	7,41	7,41	7,41	7,40	7,42
2	7,40	7,37	7,38	7,40	7,42	7,42
3	7,38	7,38	7,41	7,41	7,42	7,43
4	7,50	7,49	7,49	7,50	7,49	7,48
5	7,40	7,40	7,40	7,40	7,43	7,42
6	7,34	7,33	7,31	7,24	7,16	7,20
7	7,45	7,46	7,44	7,42	7,43	7,44
Média	7,41	7,41	7,40	7,40	7,39	7,40
DP	0,05	0,05	0,05	0,08	0,11	0,09
HNA+Amido						
1	7,35	7,32	7,32	7,33	7,38	7,39
2	7,37	7,37	7,39	7,39	7,45	7,45
3	7,33	7,34	7,37	7,39	7,44	7,48
4	7,34	7,34	7,37	7,37	7,42	7,46
5	7,36	7,34	7,38	7,39	7,42	7,43
6	7,25	7,23	7,27	7,28	7,36	7,36
7	7,39	7,36	7,37	7,34	7,40	7,39
Média	7,34	7,33	7,35	7,35	7,41	7,42
DP	0,04	0,05	0,04	0,04	0,03	0,04
HNA+NaCl						
1	7,35	7,20	7,26	7,27	7,29	7,30
2	7,31	7,30	7,30	7,26	7,42	7,40
3	7,35	7,27	7,28	7,27	7,33	7,37
4	7,37	7,23	7,22	7,19	7,23	7,26
5	7,36	7,19	7,23	7,25	7,31	7,35
6	7,43	7,25	7,31	7,33	7,40	7,41
7	7,45	7,29	7,34	7,36	7,41	7,36
Média	7,37	7,25	7,28	7,27	7,34	7,35
DP	0,05	0,04	0,04	0,05	0,07	0,05
HNA+Gel						
1	7,44	7,40	7,45	7,42	7,48	7,49
2	7,31	7,31	7,31	7,35	7,37	7,42
3	7,38	7,35	7,37	7,34	7,40	7,37
4	7,40	7,38	7,42	7,40	7,41	7,46
5	7,36	7,37	7,34	7,34	7,39	7,41
6	7,45	7,44	7,43	7,41	7,47	7,46
7	7,44	7,43	7,43	7,40	7,46	7,42
Média	7,40	7,38	7,39	7,38	7,43	7,43
DP	0,05	0,05	0,05	0,03	0,04	0,04

DP: desvio-padrão

APÊNDICE S – Valores individuais de Pressão Parcial de Oxigênio no sangue venoso misto (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	48	50	50	49	54	50
2	40	48	52	49	46	44
3	56	52	52	50	50	55
4	47	50	50	48	47	52
5	54	57	58	57	58	57
6	48	53	51	51	50	50
7	47	45	50	52	54	50
Média	48	51	52	51	51	51
DP	5	4	3	3	4	4
HNA+Amido						
1	52	47	44	45	55	55
2	44	40	36	36	46	43
3	48	47	43	39	54	46
4	44	41	37	36	49	43
5	45	52	49	42	52	52
6	57	56	48	49	54	56
7	48	48	49	49	60	56
Média	48	47	43	42	53	50
DP	5	6	5	6	4	6
HNA+NaCl						
1	44	48	43	42	49	46
2	58	56	55	52	57	53
3	52	47	46	46	50	46
4	44	55	53	59	63	69
5	45	51	44	42	49	49
6	53	45	42	42	55	57
7	54	46	43	43	58	61
Média	50	50	47	47	54	54
DP	6	4	5	7	5	9
HNA+Gel						
1	45	37	38	45	45	43
2	49	49	43	47	54	52
3	56	41	37	45	52	48
4	59	47	54	47	60	55
5	58	56	45	45	59	53
6	47	45	43	40	54	47
7	46	43	42	39	49	45
Média	52	45	43	44	53	49
DP	6	6	5	3	5	5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE T – Valores individuais Pressão Parcial de Dióxido de Carbono no sangue venoso misto (mmhg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	49	48	48	48	50	48
2	45	51	51	49	44	47
3	51	51	46	49	48	45
4	38	38	38	37	38	42
5	47	49	49	50	47	49
6	51	53	47	46	47	45
7	43	41	46	48	45	45
Média	46	47	46	47	46	46
DP	5	6	4	4	4	2
HNA+Amido						
1	51	49	50	50	46	47
2	49	46	47	48	44	44
3	54	48	47	45	43	40
4	51	51	51	50	46	43
5	52	48	47	47	43	44
6	50	57	56	57	51	52
7	56	50	49	55	50	51
Média	52	50	49	50	46	46
DP	3	4	3	4	3	5
HNA+NaCl						
1	49	51	48	49	50	53
2	60	46	49	57	39	44
3	52	50	51	57	54	50
4	51	51	54	60	58	55
5	49	46	43	39	38	46
6	46	50	46	49	46	45
7	44	46	43	44	45	52
Média	50	49	48	51	47	49
DP	5	2	4	8	7	5
HNA+Gel						
1	44	42	42	42	41	39
2	55	49	54	52	53	47
3	49	47	47	52	50	53
4	49	46	44	48	49	45
5	56	49	54	57	51	50
6	42	39	44	47	42	43
7	40	39	42	45	40	43
Média	48	44	47	49	47	46
DP	6	4	5	5	6	5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE U – Valores individuais de Saturação de Oxigênio no sangue venoso misto (%) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	81	83	83	81	82	81
2	75	78	83	82	80	78
3	84	82	83	81	81	85
4	87	89	89	87	86	87
5	86	88	88	87	88	86
6	77	81	79	77	71	73
7	83	83	83	83	86	84
Média	82	83	84	82	82	82
DP	5	4	3	4	6	5
HNA+Amido						
1	78	73	68	72	84	84
2	78	78	76	74	85	84
3	76	77	74	70	86	82
4	78	78	76	74	85	84
5	75	81	82	74	85	85
6	82	80	74	76	85	85
7	83	82	82	78	88	85
Média	79	78	76	74	86	84
DP	3	3	5	3	1	1
HNA+NaCl						
1	72	71	67	67	78	75
2	81	81	79	73	85	80
3	82	77	76	75	80	78
4	76	81	76	77	83	87
5	76	78	70	68	80	80
6	89	77	75	75	87	88
7	88	78	76	71	88	88
Média	81	78	74	73	83	82
DP	6	4	4	4	4	5
HNA+Gel						
1	83	72	76	81	83	81
2	78	79	71	76	82	82
3	85	71	64	70	81	77
4	83	78	72	72	84	82
5	86	87	75	74	88	84
6	84	81	76	67	88	81
7	85	78	72	65	88	84
Média	83	78	72	72	85	82
DP	3	5	4	6	3	2

DP: desvio-padrão

APÊNDICE V – Valores individuais de frequência respiratória (mpm) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	19	19	19	19	21	19
2	15	14	15	15	15	15
3	18	18	18	18	18	18
4	15	15	14	15	15	15
5	15	15	15	15	15	15
6	20	20	20	20	20	20
7	20	20	20	20	20	20
Média	17	17	17	17	18	17
DP	2	3	3	2	3	2
HNA+Amido						
1	16	16	16	16	16	16
2	15	15	15	15	15	15
3	20	19	20	19	19	20
4	19	20	20	20	19	20
5	17	17	17	16	17	17
6	16	18	18	18	18	18
7	20	20	20	20	20	20
Média	18	18	18	18	18	18
DP	2	2	2	2	2	2
HNA+NaCl						
1	14	14	14	15	15	15
2	22	24	24	24	24	24
3	17	17	17	17	16	17
4	15	15	15	15	15	20
5	15	15	15	15	15	15
6	15	15	15	15	15	15
7	20	20	20	20	24	24
Média	17	17	17	17	18	19
DP	3	4	4	3	4	4
HNA+Gel						
1	20	20	20	20	20	20
2	26	26	26	26	26	26
3	20	20	20	18	20	20
4	20	20	20	20	20	20
5	20	20	20	20	20	20
6	20	20	20	20	20	20
7	20	20	20	20	20	20
Média	21	21	21	21	21	21
DP	2	2	2	3	2	2

DP: desvio-padrão

APÊNDICE W – Valores individuais de Pressão Parcial de Dióxido de Carbono no Ar Expirado (mmHg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	41	41	42	42	43	40
2	42	42	42	40	37	37
3	44	44	40	39	39	39
4	33	34	34	33	34	35
5	41	41	42	41	41	41
6	41	42	38	37	38	38
7	37	38	40	40	39	38
Média	40	40	40	39	39	38
DP	4	3	3	3	3	2
HNA+Amido						
1	41	39	38	37	38	38
2	38	36	34	37	37	36
3	44	37	37	34	39	35
4	42	39	37	36	37	34
5	37	36	33	33	36	34
6	45	46	42	41	42	41
7	40	41	40	41	43	42
Média	41	39	37	37	39	37
DP	3	4	3	3	3	3
HNA+NaCl						
1	39	36	36	35	38	41
2	47	37	36	37	34	33
3	44	37	38	38	36	35
4	41	32	43	47	45	41
5	42	38	36	37	39	39
6	43	36	37	36	40	40
7	38	34	34	36	38	50
Média	42	36	37	38	39	40
DP	3	2	3	4	3	5
HNA+Gel						
1	37	33	32	36	35	33
2	44	38	36	40	41	37
3	41	37	36	41	39	43
4	43	39	38	40	44	40
5	47	44	42	42	43	41
6	37	36	37	40	39	39
7	35	34	37	48	36	37
Média	41	37	37	41	40	39
DP	4	4	3	4	3	3

DP: desvio-padrão

APÊNDICE X – Valores individuais de Hematócrito (%) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	29	29	28	28	27	26
2	23	25	23	25	25	25
3	32	31	33	32	31	31
4	27	27	26	27	27	28
5	29	31	33	33	34	33
6	30	30	30	30	29	29
7	31	31	30	30	29	29
Média	29	29	29	29	29	29
DP	3	2	4	3	3	3
HNA+Amido						
1	29	15	18	14	27	27
2	28	14	15	16	24	24
3	30	14	13	18	27	25
4	29	14	16	19	23	23
5	30	14	15	15	25	27
6	30	15	15	18	23	26
7	33	13	13	14	27	27
Média	30	14	15	16	25	26
DP	2	1	2	2	2	2
HNA+NaCl						
1	30	16	18	16	26	29
2	26	14	17	17	23	24
3	26	16	20	20	24	25
4	29	15	22	22	27	28
5	30	17	13	16	24	25
6	33	15	19	20	29	31
7	34	14	20	21	29	30
Média	30	15	18	19	26	27
DP	3	1	3	2	2	3
HNA+Gel						
1	27	14	15	15	22	24
2	31	15	16	17	23	23
3	29	14	14	15	22	25
4	31	15	17	17	31	31
5	29	14	15	16	26	26
6	33	15	15	15	26	26
7	31	15	16	16	28	27
Média	30	15	15	16	25	26
DP	2	1	1	1	3	3

DP: desvio-padrão

APÊNDICE Y – Valores individuais de Bicarbonato no sangue arterial (mmol/L) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	28,4	28,4	27,7	28,8	26,6	28,3
2	27,0	26,6	27,6	28,9	28,1	28,1
3	27,5	27,6	27,9	27,6	28,5	28,1
4	28,8	27,9	28,3	26,5	27,1	28,6
5	27,8	28,9	28,5	29,1	28,8	29,8
6	24,7	24,9	24,9	14,9	12,9	17,3
7	28,2	28,3	28,5	28,3	27,9	28,4
Média	27,5	27,5	27,6	26,3	25,7	26,9
DP	1,4	1,4	1,3	5,1	5,7	4,3
HNA+Amido						
1	25,4	23,2	23,4	23,2	25,3	25,5
2	25,5	24,6	25,9	26,9	29,6	28,7
3	24,5	23,9	24,0	23,9	26,7	27,0
4	25,2	26,3	26,5	26,8	27,6	28,6
5	25,9	23,3	25,6	26,1	26,9	27,3
6	22,4	21,7	23,5	24,8	25,9	27,9
7	31,4	26,2	25,2	26,9	29,0	28,9
Média	25,8	24,2	24,9	25,5	27,3	27,7
DP	2,7	1,7	1,2	1,5	1,6	1,2
HNA+NaCl						
1	23,2	18,2	19,0	19,7	21,8	23,0
2	26,0	21,0	21,8	23,0	23,5	24,1
3	27,0	21,3	22,2	24,5	26,0	25,2
4	26,0	19,3	20,7	20,5	22,1	22,3
5	25,0	15,6	15,5	15,6	16,7	24,0
6	29,6	20,8	21,8	21,8	26,4	26,8
7	28,0	20,4	21,1	23,1	26,5	26,4
Média	26,4	19,5	20,3	21,2	23,3	24,5
DP	2,1	2,0	2,4	2,9	3,5	1,7
HNA+Gel						
1	27,9	25,2	27,4	26,2	28,6	28,6
2	24,8	24,0	24,9	25,3	28,1	27,4
3	25,7	23,6	24,2	25,5	28,1	27,9
4	27,8	25,9	26,1	28,5	29,0	29,3
5	28,7	26,1	26,9	28,9	29,2	29,0
6	26,8	25,7	26,4	26,8	29,1	28,1
7	25,2	24,8	25,1	25,9	27,5	27,8
Média	26,7	25,0	25,9	26,7	28,5	28,3
DP	1,5	1,0	1,2	1,4	0,6	0,7

DP: desvio-padrão

APÊNDICE Z – Valores individuais do Íon Sódio (mmol/L) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	141	139	141	135	143	139
2	140	141	139	138	139	135
3	140	140	139	139	138	137
4	135	136	135	135	139	134
5	139	138	139	138	138	139
6	140	136	136	134	136	135
7	138	138	138	137	137	137
Média	139	138	138	137	139	137
DP	2	2	2	2	2	2
HNA+Amido						
1	141	139	139	139	140	142
2	140	139	141	139	140	141
3	142	137	140	144	143	145
4	138	136	140	136	142	141
5	137	138	136	136	139	135
6	135	135	137	135	140	139
7	141	140	141	139	141	140
Média	139	138	139	138	141	140
DP	3	2	2	3	1	3
HNA+NaCl						
1	140	142	141	141	141	142
2	135	136	134	134	134	135
3	139	140	139	139	140	141
4	139	146	141	141	142	141
5	137	142	139	139	142	142
6	142	143	144	144	145	143
7	139	143	140	139	140	140
Média	139	142	140	140	141	141
DP	2	3	3	3	3	3
HNA+Gel						
1	139	140	138	139	139	139
2	139	140	139	139	140	140
3	140	142	140	139	142	142
4	139	139	138	137	139	138
5	135	137	137	135	137	137
6	138	140	139	138	139	140
7	139	139	138	138	138	140
Média	138	140	138	138	139	139
DP	2	2	1	1	2	2

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AA – Valores individuais do Íon Potássio (mmol/L) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	3,6	3,9	4,0	4,0	4,5	4,3
2	3,8	3,8	4,0	4,3	4,5	4,4
3	4,1	4,1	4,3	4,3	4,7	4,4
4	3,6	3,2	3,2	3,0	3,5	3,6
5	3,6	3,7	3,6	3,7	3,8	4,1
6	4,1	4,2	4,0	4,6	4,5	4,4
7	3,8	3,7	3,7	3,9	3,8	3,9
Média	3,8	3,8	3,8	4,0	4,2	4,2
DP	0,2	0,3	0,4	0,5	0,5	0,3
HNA+Amido						
1	4,5	4,0	4,2	4,3	4,1	4,2
2	3,7	3,6	3,9	4,1	4,1	4,1
3	3,9	3,6	3,8	3,8	3,9	4,0
4	3,9	3,7	4,1	4,1	4,0	4,1
5	4,2	3,5	3,8	4,0	3,9	3,9
6	3,5	3,7	4,0	4,2	3,5	4,0
7	4,0	3,6	3,8	3,9	3,7	4,0
Média	4,0	3,7	3,9	4,1	3,9	4,0
DP	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
HNA+NaCl						
1	3,7	3,6	4,1	4,2	4,0	3,8
2	3,5	3,3	3,9	4,1	3,9	4,3
3	4,0	3,5	4,0	4,2	4,4	4,0
4	3,8	3,3	4,1	4,4	4,4	4,3
5	3,5	2,7	3,3	3,7	3,3	3,2
6	3,9	3,2	3,7	3,9	3,6	3,7
7	3,3	3,1	3,4	3,8	3,5	3,4
Média	3,7	3,2	3,8	4,0	3,9	3,8
DP	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
HNA+Gel						
1	3,6	3,1	3,6	3,5	3,6	3,6
2	4,1	3,7	4,1	4,1	3,8	3,6
3	3,9	3,5	4,0	4,4	4,0	3,8
4	3,5	3,3	3,5	3,7	3,4	3,6
5	3,8	3,5	4,0	4,5	3,8	3,7
6	4,0	3,8	4,1	4,5	4,0	3,9
7	3,9	3,8	4,0	4,2	3,9	3,9
Média	3,8	3,5	3,9	4,1	3,8	3,7
DP	0,2	0,3	0,2	0,4	0,2	0,1

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AB – Valores individuais de Lactato Arterial (mmol/L) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	1,8	1,7	2,4	1,6	1,4	1,2
2	1,7	1,7	1,3	1,0	0,7	0,7
3	1,8	1,7	2,4	1,6	1,7	1,3
4	1,6	1,6	2,0	1,3	1,1	1,0
5	0,7	0,6	0,5	1,1	0,9	0,5
6	1,6	1,5	1,3	1,1	1,0	0,9
7	1,2	1,1	1,0	1,0	0,9	0,8
Média	1,5	1,4	1,6	1,2	1,1	0,9
DP	0,4	0,4	0,7	0,3	0,3	0,3
HNA+Amido						
1	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,6
2	1,8	2,2	1,6	1,2	0,9	0,8
3	2,0	1,7	1,7	1,4	1,1	0,8
4	2,1	1,6	1,6	2,0	1,3	0,8
5	1,8	1,4	1,3	0,9	1,1	0,8
6	1,1	0,9	1,0	1,1	0,8	0,8
7	1,4	1,0	1,3	1,3	1,0	0,7
Média	1,6	1,3	1,3	1,2	1,0	0,8
DP	0,5	0,5	0,4	0,4	0,2	0,1
HNA+NaCl						
1	1,7	1,3	1,5	1,1	0,7	0,5
2	2,0	2,2	2,8	2,5	1,8	1,5
3	1,7	1,6	1,9	1,5	1,2	0,8
4	0,9	0,5	0,8	1,0	0,7	0,7
5	1,5	0,6	0,8	0,6	0,9	0,8
6	1,1	0,6	0,9	0,8	0,7	0,9
7	1,6	0,9	1,4	1,5	1,1	0,9
Média	1,5	1,1	1,4	1,3	1,0	0,9
DP	0,4	0,6	0,7	0,6	0,4	0,3
HNA+Gel						
1	2,6	2,2	2,1	3,5	1,6	0,8
2	1,4	1,1	1,1	1,1	0,6	0,5
3	1,6	1,2	1,2	1,2	1,1	1,0
4	1,5	1,7	1,9	1,9	1,2	0,8
5	1,2	1,0	1,0	1,2	1,0	0,9
6	1,3	1,3	1,6	1,4	1,0	0,9
7	1,1	1,2	1,5	1,4	1,2	1,0
Média	1,5	1,4	1,5	1,7	1,1	0,8
DP	0,5	0,4	0,4	0,8	0,3	0,2

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AC – Valores individuais de Uréia Plasmática (mg/dl) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	21,04	20,50	17,10	32,43	21,91	18,62
2	29,67	23,89	25,39	37,12	35,79	22,77
3	16,32	18,94	16,66	17,20	19,69	18,89
4	15,60	18,06	15,65	18,77	22,11	17,92
5	14,51	18,30	13,31	13,79	10,66	16,15
6	36,82	19,52	30,72	31,25	29,05	28,99
7	19,00	20,93	21,87	23,26	23,56	25,32
Média	21,85	20,02	20,10	24,83	23,25	21,24
DP	8,34	2,01	6,20	8,84	7,80	4,63
HNA+Amido						
1	12,32	16,17	15,93	14,26	10,96	17,97
2	21,37	19,31	15,58	15,52	15,11	16,82
3	8,63	7,57	6,65	12,80	14,51	10,10
4	21,19	18,16	13,66	17,13	15,00	13,46
5	15,69	16,61	14,74	14,90	15,83	21,34
6	18,72	18,59	14,50	12,07	11,05	10,34
7	18,25	16,52	15,01	10,84	13,78	13,07
Média	16,60	16,13	13,72	13,93	13,75	14,73
DP	4,72	3,96	3,21	2,16	1,97	4,16
HNA+NaCl						
1	32,87	22,26	18,08	15,90	20,90	17,74
2	19,04	13,27	12,68	11,87	12,03	10,26
3	18,65	11,80	11,57	9,17	8,01	10,23
4	15,34	13,94	17,02	16,99	16,23	14,94
5	20,12	17,00	13,17	14,86	12,83	13,99
6	15,14	9,76	8,93	11,03	12,59	10,84
7	19,74	11,64	14,31	12,20	14,81	16,49
Média	20,13	14,24	13,68	13,15	13,91	13,50
DP	5,97	4,20	3,14	2,83	4,01	3,10
HNA+Gel						
1	15,55	20,61	20,33	22,01	23,24	23,11
2	29,12	26,01	24,89	25,96	20,56	22,97
3	26,01	20,11	22,09	21,26	23,82	26,58
4	17,22	16,24	16,68	19,53	18,13	18,68
5	29,31	26,03	28,56	26,55	26,90	26,41
6	17,41	15,40	18,83	21,29	21,64	22,59
7	23,04	19,23	22,36	24,78	26,39	27,46
Média	22,52	20,52	21,96	23,05	22,95	23,97
DP	5,41	3,91	3,64	2,49	2,90	2,84

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AD – Valores individuais de Glicose Plasmática (mg/dl) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	129,00	128,00	120,00	200,00	132,00	106,00
2	121,00	84,00	113,00	154,00	151,00	105,00
3	104,00	118,00	85,00	92,00	111,00	94,00
4	86,00	98,00	103,00	103,00	105,00	102,00
5	93,00	106,00	85,00	76,00	81,00	93,00
6	99,00	87,00	90,00	91,00	91,00	92,00
7	88,00	95,00	96,00	100,00	100,00	101,00
Média	102,86	102,29	98,86	116,57	110,14	99,00
DP	16,49	16,13	13,75	44,20	24,13	5,89
HNA+Amido						
1	106,00	262,00	141,00	139,00	105,00	116,00
2	107,00	236,00	154,00	125,00	125,00	104,00
3	107,00	222,00	122,00	181,00	128,00	89,00
4	123,00	199,00	138,00	148,00	110,00	74,00
5	112,00	264,00	183,00	139,00	112,00	139,00
6	136,00	263,00	168,00	127,00	99,00	63,00
7	134,00	260,00	167,00	153,00	127,00	83,00
Média	117,86	243,71	153,29	144,57	115,14	95,43
DP	13,08	25,54	21,02	18,99	11,57	26,15
HNA+NaCl						
1	117,00	99,00	86,00	81,00	84,00	63,00
2	112,00	113,00	42,00	114,00	106,00	9,00
3	118,00	100,00	127,00	110,00	111,00	105,00
4	107,00	23,00	84,00	79,00	86,00	17,00
5	94,00	69,00	94,00	109,00	99,00	96,00
6	108,00	65,00	119,00	127,00	130,00	109,00
7	89,00	87,00	97,00	107,00	110,00	116,00
Média	106,43	79,43	92,71	103,86	103,71	73,57
DP	11,09	30,25	27,63	17,57	15,88	44,77
HNA+Gel						
1	86,00	97,00	108,00	143,00	121,00	100,00
2	128,00	130,00	152,00	158,00	112,00	49,00
3	142,00	111,00	103,00	115,00	107,00	111,00
4	119,00	138,00	144,00	162,00	124,00	106,00
5	106,00	111,00	128,00	118,00	108,00	107,00
6	116,00	125,00	134,00	133,00	119,00	107,00
7	74,00	91,00	84,00	79,00	82,00	82,00
Média	110,14	114,71	121,86	129,71	110,43	94,57
DP	21,89	15,97	22,57	26,61	13,08	20,61

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AE – Valores individuais de Osmolaridade (mOsm/Kg) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	300	296	300	295	306	296
2	299	298	297	299	301	288
3	297	298	294	295	295	291
4	285	287	285	285	295	284
5	293	292	292	290	290	294
6	300	289	290	287	291	289
7	292	292	292	291	291	292
Média	295	293	293	292	296	290
DP	6	4	5	5	6	4
HNA+Amido						
1	301	303	297	297	296	302
2	301	302	301	296	298	299
3	301	295	295	308	303	305
4	298	293	298	291	301	297
5	294	300	292	290	295	289
6	291	295	294	287	294	291
7	304	304	301	296	299	295
Média	299	299	297	295	298	297
DP	4	4	3	7	3	6
HNA+NaCl						
1	299	300	298	298	298	298
2	286	287	280	285	284	281
3	296	295	295	294	296	298
4	294	302	298	298	300	294
5	290	296	292	294	298	298
6	300	298	303	305	307	301
7	293	299	295	294	296	296
Média	294	297	294	295	297	295
DP	5	5	7	6	7	7
HNA+Gel						
1	293	295	293	297	296	295
2	298	299	299	299	297	294
3	300	301	297	297	302	302
4	294	295	294	294	295	292
5	288	292	294	290	292	292
6	293	297	297	296	296	298
7	294	294	292	293	293	297
Média	294	296	295	295	296	296
DP	4	3	3	3	3	4

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AF – Valores individuais de Temperatura (°C) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle						
1	37,9	38,0	38,1	38,3	39,5	38,9
2	38,7	38,5	38,4	38,3	37,9	37,9
3	39,0	38,9	39,0	39,2	39,3	39,3
4	36,2	36,2	36,4	37,0	37,5	38,0
5	38,1	37,9	38,0	38,3	38,8	39,0
6	38,5	38,5	38,4	38,1	38,2	38,1
7	37,5	37,7	38,5	39,0	38,6	38,3
Média	38,0	38,0	38,1	38,3	38,5	38,5
DP	0,9	0,9	0,8	0,7	0,7	0,6
HNA+Amido						
1	39,4	39,2	39,5	38,9	38,7	39,0
2	38,0	37,4	37,7	38,0	37,9	37,9
3	38,8	38,2	38,1	38,1	38,1	38,1
4	38,5	38,3	38,1	38,6	38,0	37,8
5	38,5	37,3	37,2	37,9	37,9	38,5
6	38,5	38,0	38,1	38,2	38,0	38,3
7	37,1	37,0	37,4	38,2	38,4	39,2
Média	38,4	37,9	38,0	38,3	38,1	38,4
DP	0,7	0,7	0,7	0,4	0,3	0,5
HNA+NaCl						
1	38,7	38,2	38,3	38,2	37,5	37,7
2	39,9	39,1	39,5	39,7	39,8	40,3
3	38,0	38,7	36,7	37,3	37,5	38,0
4	37,6	37,6	38,6	39,6	39,3	39,7
5	38,0	36,8	37,4	37,6	37,4	37,8
6	36,1	35,9	36,2	36,6	37,0	37,8
7	37,8	36,6	37,0	37,5	37,8	38,4
Média	38,0	37,6	37,7	38,1	38,0	38,5
DP	1,1	1,2	1,2	1,2	1,1	1,0
HNA+Gel						
1	37,2	36,3	36,8	37,2	37,3	37,7
2	37,8	37,3	37,8	38,5	39,2	39,2
3	38,5	38,0	38,5	39,3	39,5	39,1
4	37,6	36,9	37,1	38,0	38,7	38,7
5	38,5	37,6	38,0	38,3	38,1	38,4
6	37,4	37,5	38,5	39,5	38,3	38,3
7	37,2	37,5	37,9	38,3	38,3	38,5
Média	37,7	37,3	37,8	38,4	38,5	38,6
DP	0,6	0,6	0,6	0,8	0,7	0,5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AG – Valores individuais de Burst Oxidativo de Neutrófilos do Sangue Periférico Representado pelo reagente DCFH (MGIF) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	31,9	37,0		39,3	41,2	33,4	35,5
2	28,6	17,7	20,3	37,7	20,5	18,3	22,2
3	18,3	20,1	21,2	37,0	25,7	20,7	21,5
4	24,2	22,4	17,5	18,5	17,9	20,2	23,6
5	27,0	37,1	33,7	40,3	38,0	35,4	39,1
6	30,2	32,0	36,0	34,2	31,0	30,8	35,2
7	26,2	23,1	23,4	28,7	33,7	18,3	17,1
Média	26,6	27,1	25,3	33,7	29,7	25,3	27,7
DP	4,5	8,1	7,6	7,7	8,7	7,6	8,6
HNA+Amido							
1	31,7	27,6	75,4	49,2	53,5	51,9	30,2
2	37,4	38,1	52,3	49,2	46,8	38,4	35,5
3	27,4	27,2	56,3	49,0	42,1	38,6	41,9
4	26,0	41,2	72,2	60,4	34,7	40,5	37,3
5	27,4	26,2	45,8	42,9	48,1	39,9	31,0
6	32,9	34,8	60,7	49,6	46,2	35,7	28,5
7	26,4	30,4	61,6	48,5	44,9	25,1	38,3
Média	29,9	32,2	60,6	49,8	45,2	38,6	34,7
DP	4,2	5,9	10,5	5,2	5,8	7,9	4,9
HNA+NaCl							
1	30,4	21,5	41,4	38,1	35,1	39,6	26,4
2	26,4	31,5	54,5	46,5	41,7	43,0	35,4
3	31,4	39,4	52,5	50,9	53,8	40,8	42,4
4	28,5	39,6	68,5	60,7	62,9	39,6	36,7
5	30,1	25,3	71,1	42,7	47,6	24,9	22,0
6	28,5	28,5	52,0	37,0	42,0	32,3	36,2
7	27,7	25,8	51,6	45,4	40,3	28,1	13,3
Média	29,0	30,2	55,9	45,9	46,2	35,5	30,4
DP	1,7	7,0	10,4	8,1	9,4	7,0	10,2
HNA+Gel							
1	28,4	14,5	43,5	36,6	32,1	31,7	24,1
2	28,6	35,4	76,1	46,9	45,5	31,2	36,4
3	29,1	32,6	112,7		65,8	45,4	39,0
4	24,6	21,2	61,7	50,1	36,3	34,0	38,3
5	30,0	28,1	48,1	42,3	40,9	33,2	33,0
6	24,4	33,0	76,3	76,8	55,8	40,1	35,2
7	31,6	19,5	54,0	51,9	49,3	39,8	28,9
Média	28,1	26,3	67,5	50,8	46,5	36,5	33,6
DP	2,7	8,0	23,7	13,9	11,6	5,4	5,4

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AH – Valores individuais de Burst Oxidativo de Neutrófilos do Sangue Periférico Induzido pelo Estímulo PMA (MGIF) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	1640	2069	1866	2073	1627	1685	1972
2	790	531	582	763	671	570	569
3	784	791	884	952	819	771	902
4	1850	1593	1513	1830	1816	2157	2247
5	1700	1633	1855	1776	1602	1702	1874
6	950	1253	1189	1304	1159	1285	1282
7	350	169	111	209	184	220	185
Média	1152	1149	1143	1272	1125	1198	1290
DP	574	678	660	671	598	702	776
HNA+Amido							
1	510	558	771	793	737	544	504
2	1359	1600	2152	2217	2245	1718	1901
3	810		1203	637	804	667	828
4	1279	1487	1722	1652	1830	1863	1726
5	1528	1690	3189	2049	2301	1855	1932
6	1955	2102	2909	2408	2015	1838	1535
7	602	608	1544	1040	1425	1149	965
Média	1149	1341	1927	1542	1622	1376	1342
DP	529	623	881	719	650	584	571
HNA+NaCl							
1	1274	1884	3544	3602	3569	3101	3120
2	1360	1722	2059	2028	1834	1713	1713
3	1534	1632	1843	1950	2002	1863	1717
4	1035	1649	2420	2090	1992	1954	1788
5	514	346	633	449	382	379	379
6	1373	1498	1804	1338	2214	2167	1930
7	1300	1351	1441	1198	1157	1327	693
Média	1198	1440	1963	1808	1879	1786	1620
DP	337	511	894	984	980	827	894
HNA+Gel							
1	1802	1560	3685		3322	2697	2935
2	921	1340	2313	1831	1812	1480	1456
3	1471	1172	1672	2565	1732	1235	955
4	587	384	1239	1396	944	1110	943
5	995	1002	1678	1393	1398	1329	1248
6	1690	1121	3463	1939	3258	2909	3272
7	816	952	1998	1569	1753	1457	1419
Média	1183	1076	2292	1782	2031	1745	1747
DP	469	368	937	444	910	736	953

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AI – Valores individuais de Burst Oxidativo de Monócitos do Sangue Periférico Representado pelo reagente DCFH (MGIF) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	13,5	10,2		10,2	16,9	15,5	13,6
2	15,9	9,6	10,7	14,5	9,2	9,3	8,3
3	3,9	19,7	4,4	7,6	5,0	4,4	5,7
4	13,0	13,2	9,7	8,8	9,9	10,9	10,9
5	9,9	17,0	12,7	15,5	16,1	19,1	15,4
6	15,5	19,2	17,3	13,4	11,7	14,1	19,4
7	6,5	7,7	8,7	8,7	9,9	6,4	6,6
Média	11,2	13,8	10,6	11,2	11,3	11,4	11,4
DP	4,6	4,9	4,3	3,2	4,1	5,2	5,0
HNA+Amido							
1	6,5	3,7	14,6	7,8	9,0	10,1	4,8
2	21,2	20,9	28,9	24,5	24,0	16,8	18,4
3	4,4	5,9	9,1	8,5	6,8	6,3	4,5
4	11,1	22,6	26,2	17,0	6,7	13,2	9,7
5	16,2	14,4	16,3	31,2	32,5	20,0	17,0
6	12,9	17,0	25,4	35,0	17,4	13,0	8,6
7	4,6	5,4	14,6	10,3	8,3	7,0	14,8
Média	11,0	12,9	19,3	19,2	14,9	12,4	11,1
DP	6,3	7,8	7,5	11,2	10,1	5,0	5,7
HNA+NaCl							
1	9,9	12,4	31,7	25,0	20,6	18,8	14,5
2	5,9	7,6	12,5	9,2	7,9	6,3	6,2
3	8,1	10,5	12,3	11,1	9,7	7,4	8,6
4	13,0	20,5	32,3	27,9	26,2	22,3	21,5
5	8,6	4,7	13,1	7,5	10,7	5,1	5,0
6	16,3	15,8	20,0	17,7	21,8	14,0	12,8
7	6,9	7,0	12,2	11,2	7,6	6,2	3,6
Média	9,8	11,2	19,1	15,7	14,9	11,4	10,3
DP	3,7	5,5	9,2	8,1	7,7	6,9	6,4
HNA+Gel							
1	16,4	8,3	19,7	18,0	17,3	18,9	15,6
2	8,4	7,9	21,7	15,1	17,0	13,0	12,6
3	8,6	10,2	29,3	54,0	12,9	11,7	12,1
4	7,6	3,9	7,1	6,2	7,5	6,3	6,2
5	13,7	13,4	20,0	20,2	17,5	12,0	13,4
6	5,5	8,8	29,9	11,8	11,9	9,1	9,7
7	12,4	5,4	24,6	21,0	16,7	10,3	7,3
Média	10,4	8,3	21,8	20,9	14,4	11,6	11,0
DP	3,9	3,1	7,7	15,5	3,8	3,9	3,4

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AJ – Valores individuais de burst oxidativo de células pulmonares (células monocíticas e macrófagos) representado pelo DCFH e estimulado pelo PMA (MGIF) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	DCFH		PMA	
	Cel. Monocíticas	Macrófagos	Cel. Monocíticas	Macrófagos
Controle				
1	13,6	102,3	10,1	276,4
2	4,1	85,2	2,6	128,2
3	8,1	121,1	13,3	245,2
4	7,9	100,3	14,7	227,5
5	6,1	87,6	6,4	105,9
6	7,9	84,5	8,5	183,0
7	8,0	115,9	47,2	154,2
Média	7,9	99,5	14,7	188,6
DP	2,9	14,8	14,9	63,4
HNA+Amido				
1	23,4	49,4	46,0	166,4
2	40,7	207,9	46,5	352,3
3	4,6	114,1	9,5	124,7
4	28,9	115,1	39,5	173,2
5	29,1	68,6	56,3	107,7
6	29,0	169,7	169,6	480,3
7	5,1	49,6	32,8	156,5
Média	23,0	110,6	57,2	223,0
DP	13,4	60,9	51,7	139,0
HNA+NaCl				
1	8,2	189,8	18,8	269,4
2	21,3	128,0	26,8	222,7
3	18,1	111,4	25,6	171,1
4	12,3	177,0	32,5	398,7
5	12,6	198,6	21,2	369,7
6	4,2	96,6	4,7	226,3
7	36,3	148,2	9,6	355,4
Média	16,1	149,9	19,9	287,6
DP	10,5	39,8	9,8	87,1
HNA+Gel				
1	37,7	641,5	106,1	814,0
2	39,1	433,5	87,4	875,0
3	26,6	741,7	93,0	1658,7
4	19,7	333,7	57,5	974,8
5	87,3	178,8	233,2	415,5
6	27,6	104,3	29,1	414,7
7	36,0	601,0	5,8	972,3
Média	39,1	433,5	87,4	875,0
DP	22,4	241,4	73,7	420,4

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AK – Valores individuais Fator de Necrose Tumoral- α sérico (pg/ml) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	162,6	79,1	106,9	98,5	118,6	118,6	81,9
2	63,1	117,0	87,8	77,5	119,2	75,4	65,2
3	236,8	79,9	96,8	73,2	86,6	119,3	78,2
4	142,5	188,5	91,7	93,4	85,0	68,1	100,1
5	81,6	15,7	21,6	27,5	87,8	87,8	65,2
6	224,3	45,1	162,4	23,6	96,0	37,2	41,2
7	69,3	25,5	71,3	138,6	95,3	112,7	63,1
Média	140,0	78,7	91,2	76,0	98,3	88,4	70,7
DP	72,2	59,8	42,0	40,5	14,6	30,7	18,4
HNA+Amido							
1	178,1	241,5	181,2	352,5	302,3	202,9	81,9
2	209,0	127,4	202,9	144,9	121,5	109,8	84,7
3	194,1	100,1	114,0	154,9	194,1	184,7	64,7
4	264,7	95,1	163,2	81,6	68,1	73,2	78,2
5	63,1	65,2	310,3	69,3	75,4	59,0	50,9
6	140,8	77,5	81,6	300,2	73,4	96,0	77,5
7	54,9	39,2		100,1	47,0	61,1	50,9
Média	157,8	106,6	175,5	171,9	126,0	112,4	69,8
DP	77,1	65,7	79,6	111,0	91,9	58,8	14,3
HNA+NaCl							
1	206,0	124,4	130,3	359,9	118,6	127,4	199,8
2	218,5	93,0	264,4	209,0	133,2	178,1	133,2
3	339,7	69,8	81,6	228,8	91,7	289,9	69,8
4	292,0	91,7	188,5	126,4	76,5	90,0	81,6
5	37,2	67,2	39,2	171,5	63,1	81,6	77,5
6	65,2	69,3	119,2	243,5	362,9	221,9	164,7
7	93,0	106,9	212,1	159,6	147,9	162,6	106,9
Média	178,8	88,9	147,9	214,1	142,0	164,5	119,1
DP	116,4	21,7	78,2	76,2	102,1	74,2	49,2
HNA+Gel							
1	109,8	133,2	121,5	601,9	133,2	93,0	118,6
2	84,7	127,4	130,3	449,8	397,9	545,0	257,8
3	135,3	130,3	128,2	550,6	213,0	85,0	98,4
4	121,1	127,3	240,8	201,7	448,6	380,4	175,3
5	164,0	135,3	565,2	117,5	179,0	71,5	73,2
6	81,6	96,8	117,5	184,7	169,6	144,2	142,5
7	124,4	125,0	244,7	156,7	587,1	193,6	611,9
Média	117,3	125,0	221,2	323,3	304,1	216,1	211,1
DP	28,8	13,0	161,7	203,9	173,7	179,9	186,7

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AL – Valores individuais de Interleucina-1 β do sangue (pg/ml) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	110,1	74,0	22,5	39,4	39,4	44,2	49,1
2	86,0	65,8	37,9	46,2	105,9	37,9	48,3
3	70,6	106,7	43,0	92,1		20,8	63,6
4	75,3	61,3	179,9	68,3	126,9	97,0	56,6
5	91,0	120,4	37,9	68,0	50,4	31,6	37,9
6	105,3	160,3	174,8	93,4	117,8	48,3	50,4
7	149,4	202,0	202,0	177,7	174,8	91,0	61,4
Média	98,2	112,9	99,7	83,6	102,5	53,0	52,5
DP	26,7	52,7	81,0	46,3	50,5	29,4	8,8
HNA+Amido							
1	84,2	41,8	94,5	112,7	178,4	86,7	64,0
2	36,9	24,9	121,0	41,8	39,4	59,0	20,1
3	89,7	158,2	77,6	70,6	152,9	101,8	47,5
4	128,2	56,6	147,6	52,0	25,2	47,5	18,7
5	107,7	102,9	128,0	74,7	120,4		177,7
6	120,1	241,4	116,4	195,7	125,5	208,3	120,4
7	214,5	65,8	149,4	46,2	79,2	98,1	61,4
Média	111,6	98,8	119,2	84,8	103,0	100,2	72,8
DP	54,4	76,9	26,3	54,5	57,2	57,2	57,5
	84,2	41,8	94,5	112,7	178,4	86,7	64,0
HNA+NaCl							
1	66,5	39,4	36,9	264,8	44,2	46,7	44,2
2	142,2	81,6	219,1	147,7	115,4	123,4	86,7
3	126,9	61,3	45,3	208,1	56,6	45,3	99,4
4	36,3	36,3	109,2	63,6	59,0	66,0	56,6
5	135,7	100,5	19,5	202,0	59,1	21,5	54,7
6	29,5	100,5	160,3	189,5	79,2	59,1	91,0
7	49,1	71,5	161,5	89,3	131,4		34,5
Média	83,8	70,2	107,4	166,4	77,8	60,3	66,7
DP	49,5	26,3	76,1	70,8	33,1	34,4	25,3
HNA+Gel							
1	97,1	36,9	74,0	207,3	186,9	153,2	27,2
2	94,5	74,0	54,0	326,4	237,1	195,6	150,5
3	36,3	104,3	40,8	480,5	49,8	87,2	89,7
4	73,0	68,3	68,3	268,2	179,9	177,2	179,9
5	34,1	109,2	148,3	94,5	70,6	40,8	66,0
6	54,3	31,8	63,6	142,4	116,8	38,6	40,8
7	71,5	39,4	76,5	46,7	102,2	36,9	20,1
Média	65,8	66,3	75,1	223,7	134,8	104,2	82,0
DP	25,5	31,9	34,5	149,1	68,3	69,8	62,1

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AM – Valores individuais de Interleucina-6 do sangue (pg/ml) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	64,7	130,5	91,4	67,4	113,3	107,5	121,9
2	119,5	149,1	132,2	132,2	188,9	144,9	115,3
3	119,4	177,6	105,1	108,6		133,7	112,2
4	338,2	211,6	188,9	185,2	188,9	223,3	166,3
5	358,8	235,3	175,4	211,4	144,9	225,6	202,4
6		170,9	128,0	140,7	123,8	140,7	179,9
7	216,0	179,9	128,0	175,4	188,9		140,7
Média	202,8	179,3	135,6	145,8	158,1	162,6	148,4
DP	123,1	35,4	35,2	49,1	35,3	49,6	35,1
HNA+Amido							
1	184,1	187,2	220,9	225,5	222,1	205,9	202,8
2	199,7	168,6	302,6	171,7	291,5	459,3	162,3
3	162,5	144,5	108,6	166,3	158,9	204,0	137,3
4	170,1	188,9	211,7	126,5	94,8	158,9	137,3
5	264,1	132,2	331,2	119,5	115,3	132,2	128,0
6	506,0	540,4	203,3	584,7	512,9	632,0	526,5
7	75,1	67,1		132,2	144,9	102,9	115,3
Média	223,1	204,2	229,7	218,1	220,1	270,7	201,4
DP	136,7	154,0	79,2	165,7	145,4	197,7	146,2
HNA+NaCl							
1	205,9	196,6	218,7	639,2	235,6	309,9	489,0
2	191,9	133,4	328,9	262,6	193,5	266,0	232,2
3	283,4	144,5	133,7	223,3	108,6	137,3	130,1
4	239,1	204,0	223,3	177,6	173,9	158,9	177,6
5	59,2	111,1	115,3	648,2	91,0	75,1	166,4
6	115,3	106,9	157,6	161,9	206,9	274,1	254,5
7	80,8		215,3	439,9	249,1		
Média	167,9	149,4	199,0	364,7	179,8	203,6	241,7
DP	84,3	41,9	72,0	211,3	60,3	92,8	129,3
HNA+Gel							
1	62,0	159,4	199,7	381,6	136,3	284,2	181,0
2	80,8	386,0	232,2	449,6	464,2	361,0	526,8
3	207,8	148,1	239,1	629,5	623,9	724,5	788,4
4	211,6	219,3	158,9	266,8	235,2	312,5	291,7
5	140,9	126,5	283,4	140,9	316,6	130,1	126,5
6	188,9	227,2	166,3	166,3	155,3	207,8	173,9
7	184,1	232,2	386,0	284,2	361,0	361,0	273,1
Média	153,7	214,1	237,9	331,3	327,5	340,2	337,4
DP	61,0	86,7	78,4	170,9	174,4	188,9	238,5

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AN – Valores individuais de Interleucina-10 (pg/ml) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal	TINST	TH	T60H	T120H	T60BI	T120BI
Controle							
1	33,9	30,8	38,5	30,8	46,5	41,6	32,4
2	15,0	14,0	29,2	38,8	25,0	42,1	20,0
3	13,0	13,0	24,9	17,3		15,1	17,3
4	35,2	16,2	38,6	9,8	32,9	8,8	14,0
5	26,0	24,0	11,1	9,2	10,2	13,0	12,1
6	56,0	16,0	36,7	11,1	22,0	17,0	12,1
7	21,0	22,0	20,0	31,3	22,0	51,3	10,2
Média	28,6	19,4	28,4	21,2	26,4	27,0	16,9
DP	14,8	6,5	10,4	12,2	12,2	17,3	7,6
HNA+Amido							
1	41,6	36,9	43,3	54,8	94,8	56,6	51,4
2	30,8	36,9	46,5	40,0	43,3	41,6	35,4
3	21,7	37,4	16,2	26,0	30,6	55,4	22,8
4	13,0	15,1	62,9	22,8	14,0	11,9	15,1
5	17,0	60,9	68,3	26,0	14,0	5,5	7,4
6	28,1	25,0	16,0	100,0	12,1	16,0	15,0
7	11,1	17,0		19,0	12,1	27,1	10,2
Média	23,3	32,8	42,2	41,2	31,5	30,6	22,5
DP	10,9	15,6	22,3	28,7	30,3	20,9	15,8
HNA+NaCl							
1	70,9	44,9	40,0	120,3	32,4	33,9	35,4
2	32,4	38,5	72,8	35,4	38,5	53,1	32,4
3	29,4	17,3	16,2	82,6	19,5	14,0	30,6
4	14,0	15,1	26,0	14,0	15,1	19,5	19,5
5	14,0	13,0	20,0	58,4	13,0	16,0	16,0
6	8,3	25,0	25,0	36,7	58,4	58,4	34,5
7	30,8		108,2	63,6	84,5		
Média	28,6	25,6	44,0	58,7	37,3	32,5	28,1
DP	21,0	13,2	34,2	35,1	26,1	19,4	8,2
HNA+Gel							
1	29,3	29,3	32,4	78,5	53,1	30,8	30,8
2	40,0	29,3	48,2	88,6	92,7	76,6	113,0
3	15,1	15,1	14,0	78,6	10,9	9,8	46,9
4	24,9	19,5	45,7	43,3	34,0	32,9	44,5
5	13,0	19,5	43,3	26,0	31,7	23,9	15,1
6	23,9	16,2	26,0	20,6	29,4	50,5	29,4
7	30,8	44,9		74,7	65,4	48,2	40,0
Média	25,3	24,8	34,9	58,6	45,3	39,0	45,7
DP	9,3	10,6	13,3	28,0	27,3	21,7	31,6

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AO – Valores individuais de Interleucina-8 no lavado broncoalveolar (pg/ml) dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	TBasal
Controle	
1	38,84
2	15,63
3	43,21
4	97,38
5	27,22
6	56,33
7	37,39
Média	45,14
DP	26,30

HNA+Amido	
1	57,79
2	70,95
3	85,62
4	110,64
5	144,65
6	59,25
7	75,35
Média	86,32
DP	31,35

HNA+NaCl	
1	70,95
2	68,02
3	95,91
4	70,95
5	22,87
6	40,29
7	113,59
Média	68,94
DP	30,75

HNA+Gel	
1	88,56
2	198,16
3	63,63
4	88,56
5	122,45
6	25,77
7	79,74
Média	95,27
DP	53,99

DP: desvio-padrão

APÊNDICE AP – Valores individuais da classificação da histopatologia quanto ao infiltrado de células mononucleares nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	1	0	1	0
2	0	1	1	0	1
3	1	0	1	0	1
4	1	1	0	1	0
5	1	1	1	1	1
6	1	0	1	1	1
Mediana	1	1	1	1	1
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	1	1	1	1
HNA+Amido					
1	1	1	1	0	1
2	2	2	0	2	0
3	2	0	2	2	0
4	1	2	2	1	1
5	1	1	2	2	1
6	1	2	2	2	1
Mediana	1	1,5	2	2	1
Mínimo	1	0	0	0	0
Máximo	2	2	2	2	1
HNA+NaCl					
1	2	1	1	1	0
2	1	2	2	3	1
3	2	3	2	3	1
4	2	3	2	1	1
5	3	3	0	3	1
6	2	3	2	3	0
Mediana	2	3	2	3	1
Mínimo	1	1	0	1	0
Máximo	3	3	2	3	1
HNA+Gel					
1	1	1	0	0	0
2	2	2	1	1	1
3	1	1	2	1	1
4	1	1	1	1	1
5	0	1	1	1	0
6	1	0	1	2	0
Mediana	1	1	1	1	0,5
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	2	2	2	2	1

APÊNDICE AQ – Valores individuais da classificação da histopatologia quanto ao infiltrado de neutrófilos nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	1	0	0
4	0	1	0	1	0
5	1	0	0	0	0
6	0	1	1	1	0
Mediana	0	0	0	0	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	1	1	1	0
HNA+Amido					
1	1	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0
3	0	0	1	1	0
4	0	1	1	1	0
5	1	0	1	1	0
6	1	0	1	1	0
Mediana	1	0	1	1	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	1	1	1	0
HNA+NaCl					
1	0	0	0	0	0
2	0	2	1	2	0
3	2	0	1	0	0
4	2	2	1	2	0
5	2	2	0	2	0
6	1	2	1	2	0
Mediana	1,5	2	1	2	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	2	2	1	2	0
HNA+Gel					
1	0	3	0	2	0
2	1	1	1	0	0
3	0	2	1	2	0
4	1	3	1	2	0
5	1	3	0	2	0
6	1	3	1	2	0
Mediana	1	3	1	2	0
Mínimo	0	1	0	0	0
Máximo	1	3	1	2	0

APÊNDICE AR – Valores individuais da classificação da histopatologia quanto ao infiltrado de eosinófilos e mastócitos nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
Mediana	0	0	0	0	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	1	0	0	0
HNA+Amido					
1	0	0	0	0	0
2	0	2	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	1	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
Mediana	0	0	0	0	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	2	0	0	0
HNA+NaCl					
1	0	0	0	0	0
2	0	2	0	0	0
3	1	2	0	0	0
4	0	2	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	2	0	0	0
Mediana	0	2	0	0	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	2	0	0	0
HNA+Gel					
1	0	3	0	0	0
2	0	2	0	0	0
3	0	3	0	0	0
4	1	3	0	0	0
5	0	2	0	0	0
6	0	3	0	0	0
Mediana	0	3	0	0	0
Mínimo	0	2	0	0	0
Máximo	1	3	0	0	0

APÊNDICE AS – Valores individuais da classificação da histopatologia quanto ao edema intersticial pulmonar nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	0	0	1	0
2	1	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0
4	1	0	0	1	0
5	1	1	0	1	0
6	0	1	0	1	0
Mediana	1	0	0	1	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	1	1	0	1	0
HNA+Amido					
1	1	1	1	1	0
2	2	1	2	2	0
3	2	1	1	2	0
4	2	2	1	2	0
5	2	1	1	2	0
6	1	2	1	1	0
Mediana	2	1	1	2	0
Mínimo	1	1	1	1	0
Máximo	2	2	2	2	0
HNA+NaCl					
1	2	2	2	3	1
2	3	2	2	3	1
3	3	1	3	3	1
4	2	3	3	2	1
5	3	2	2	1	0
6	3	2	2	3	0
Mediana	3	2	2	3	1
Mínimo	2	1	2	1	0
Máximo	3	3	3	3	1
HNA+Gel					
1	1	3	1	1	0
2	2	2	2	2	1
3	2	3	2	3	1
4	2	2	1	2	1
5	2	3	2	2	1
6	1	3	2	2	0
Mediana	2	3	2	2	1
Mínimo	1	2	1	1	0
Máximo	2	3	2	3	1

APÊNDICE AT – Valores individuais da classificação da histopatologia quanto ao colapso alveolar nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
Mediana	0	0	0	0	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	0	0	0	0	0
HNA+Amido					
1	1	1	1	1	0
2	2	1	1	2	0
3	2	2	1	2	0
4	1	1	0	2	0
5	1	1	0	2	0
6	1	1	1	1	0
Mediana	1	1	1	2	0
Mínimo	1	1	0	1	0
Máximo	2	2	1	2	0
HNA+NaCl					
1	3	1	2	1	1
2	3	2	2	2	2
3	2	1	3	3	2
4	3	3	3	3	1
5	2	1	2	3	1
6	3	1	2	3	1
Mediana	3	1	2	3	1
Mínimo	2	1	2	1	1
Máximo	3	3	3	3	2
HNA+Gel					
1	1	2	2	1	0
2	1	2	2	2	0
3	2	3	1	3	0
4	2	3	1	2	0
5	2	3	2	2	0
6	2	3	2	2	0
Mediana	2	3	2	2	0
Mínimo	1	2	1	1	0
Máximo	2	3	2	3	0

APÊNDICE AU – Valores individuais da classificação da histopatologia quanto a congestão pulmonar nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	0	0	0	0
2	0	0	1	0	0
3	0	0	1	1	0
4	0	0	1	1	0
5	0	0	1	1	0
6	0	0	0	1	0
Mediana	0	0	1	1	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	0	0	1	1	0
HNA+Amido					
1	0	1	1	2	0
2	1	2	2	2	1
3	1	2	2	1	0
4	1	1	1	1	1
5	2	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1
Mediana	1	1	1	1	1
Mínimo	0	1	1	1	0
Máximo	2	2	2	2	1
HNA+NaCl					
1	1	3	1	3	0
2	1	1	2	2	1
3	1	1	2	1	1
4	1	1	1	2	0
5	2	1	1	3	1
6	2	2	1	2	1
Mediana	1	1	1	2	1
Mínimo	1	1	1	1	0
Máximo	2	3	2	3	1
HNA+Gel					
1	1	3	2	2	1
2	1	1	1	1	1
3	2	2	2	3	1
4	2	3	1	2	1
5	1	3	1	2	0
6	1	3	1	2	0
Mediana	1	3	1	2	1
Mínimo	1	1	1	1	0
Máximo	2	3	2	3	1

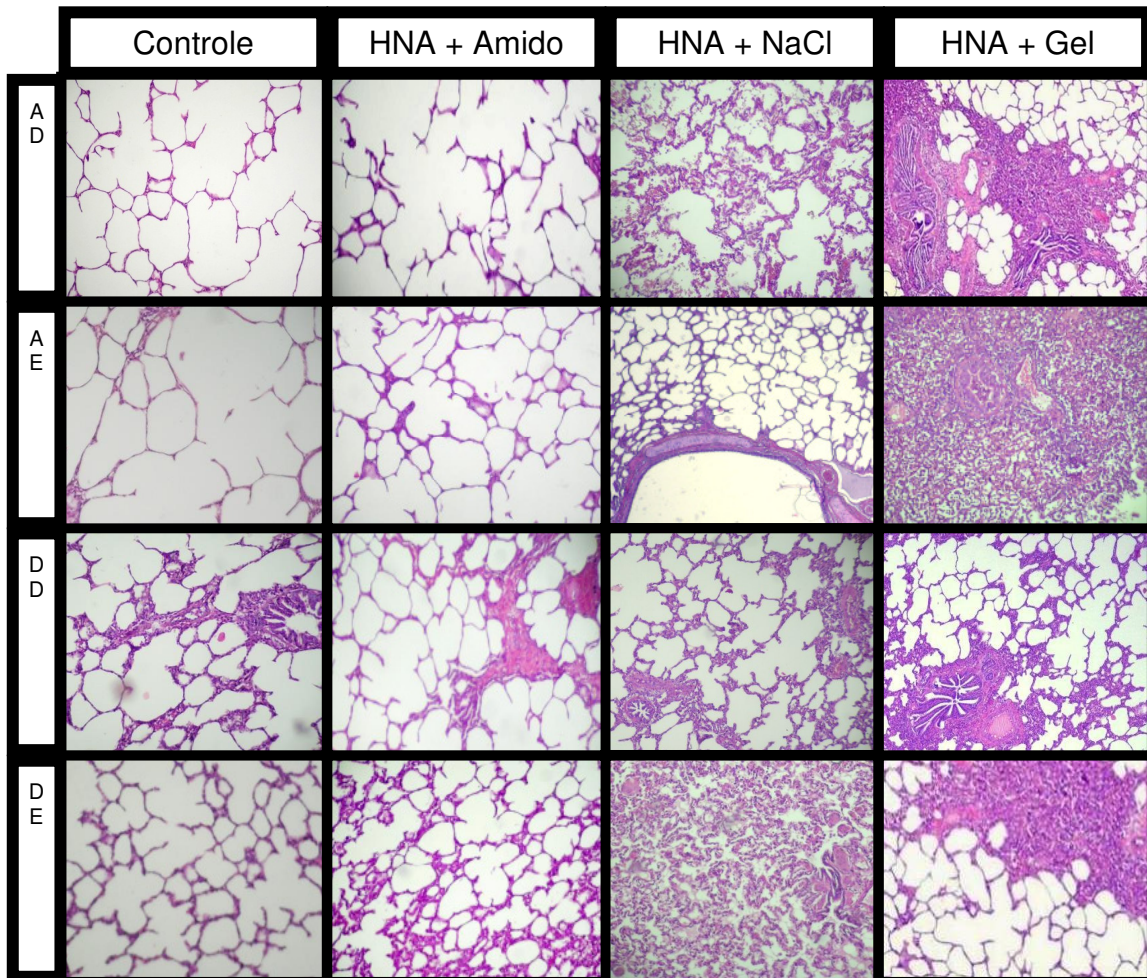
APÊNDICE AV – Valores individuais da classificação da imunohistoquímica quanto a expressão de COX-2 nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	1	0	0	0
2	0	1	1	1	0
3	0	2	1	2	0
4	0	1	0	1	0
5	0	1	1	1	0
6	0	2	1	1	0
Mediana	0	1	1	1	0
Mínimo	0	1	0	0	0
Máximo	0	2	1	2	0
HNA+Amido					
1	1	3	2	1	0
2	0	3	2	2	0
3	1	3	2	2	0
4	0	1	3	2	0
5	1	2	2	2	0
6	1	2	3	0	0
Mediana	1	2,5	2	2	0
Mínimo	0	1	2	0	0
Máximo	1	3	3	2	0
HNA+NaCl					
1	2	2	3	1	0
2	0	2	3	3	1
3	2	2	2	3	1
4	1	2	5	3	1
5	2	5	3	3	0
6	2	2	3	1	1
Mediana	2	2	3	3	1
Mínimo	0	2	2	1	0
Máximo	2	5	5	3	1
HNA+Gel					
1	1	7	2	0	0
2	2	6	2	1	0
3	0	6	3	2	0
4	1	6	3	1	0
5	1	6	2	1	0
6	1	7	2	1	0
Mediana	1	6	2	1	0
Mínimo	0	6	2	0	0
Máximo	2	7	3	2	0

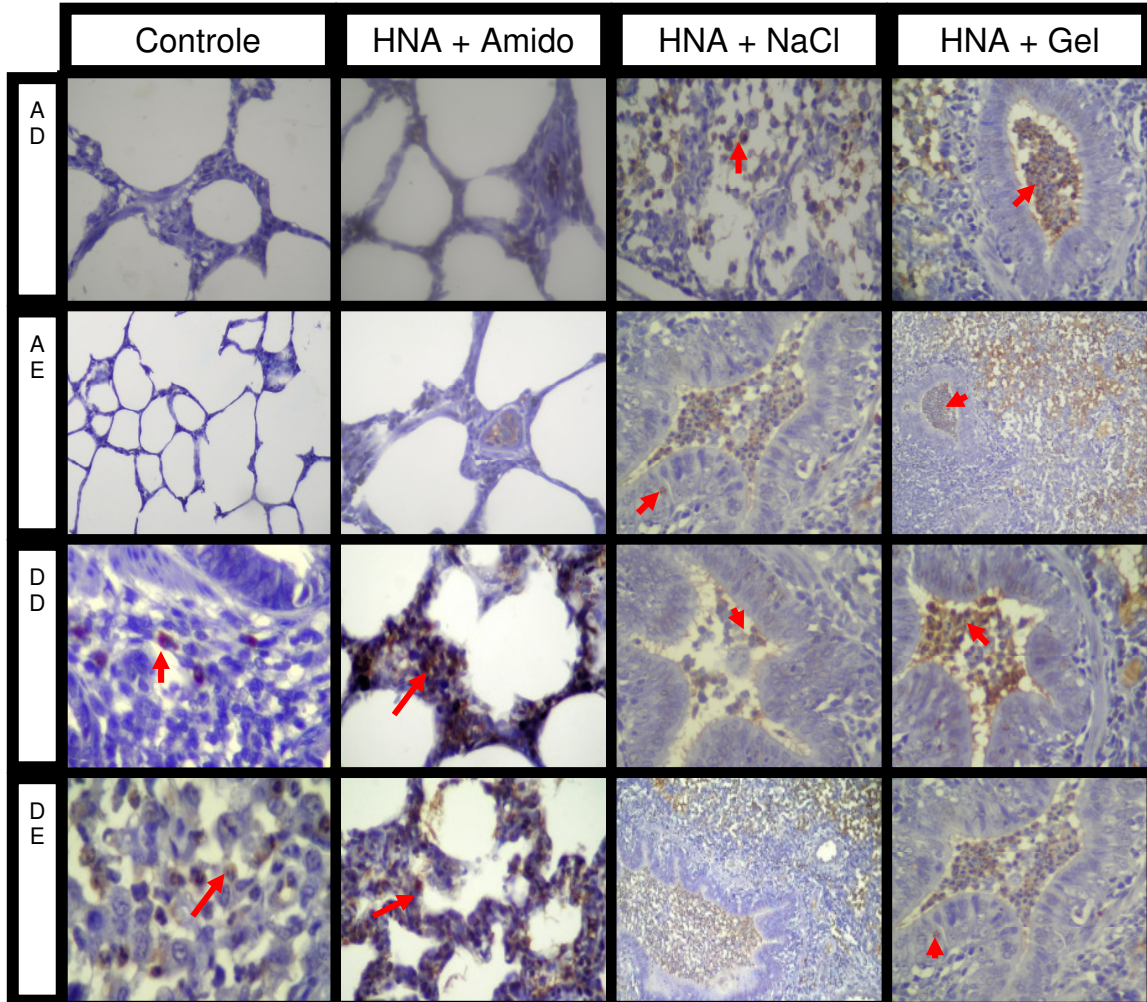
APÊNDICE AW – Valores individuais da classificação da imunoistoquímica quanto a expressão de E-selectina nos diferentes lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. São Paulo, 2009.

Animais	Apical Direito	Apical Esquerdo	Diafragmático Direito	Diafragmático Esquerdo	Acessório
Controle					
1	0	0	0	0	0
2	0	2	2	1	0
3	0	1	1	2	0
4	0	1	1	1	0
5	0	1	1	1	0
6	0	1	1	1	0
Mediana	0	1	1	1	0
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	0	2	2	2	0
HNA+Amido					
1	0	2	2	1	0
2	0	3	2	2	0
3	1	1	2	2	0
4	1	2	1	2	0
5	1	2	1	2	0
6	1	2	1	1	0
Mediana	1	2	1,5	2	0
Mínimo	0	1	1	1	0
Máximo	1	3	2	2	0
HNA+NaCl					
1	1	1	0	1	1
2	2	2	3	2	0
3	2	1	2	3	1
4	1	2	3	2	1
5	2	2	3	2	1
6	0	2	3	2	1
Mediana	1,5	2	3	2	1
Mínimo	0	1	0	1	0
Máximo	2	2	3	3	1
HNA+Gel					
1	1	6	2	1	0
2	1	5	0	0	1
3	0	6	0	2	0
4	1	5	2	1	0
5	1	5	2	1	0
6	1	6	2	1	0
Mediana	1	5,5	2	1	0
Mínimo	0	5	0	0	0
Máximo	1	6	2	2	1

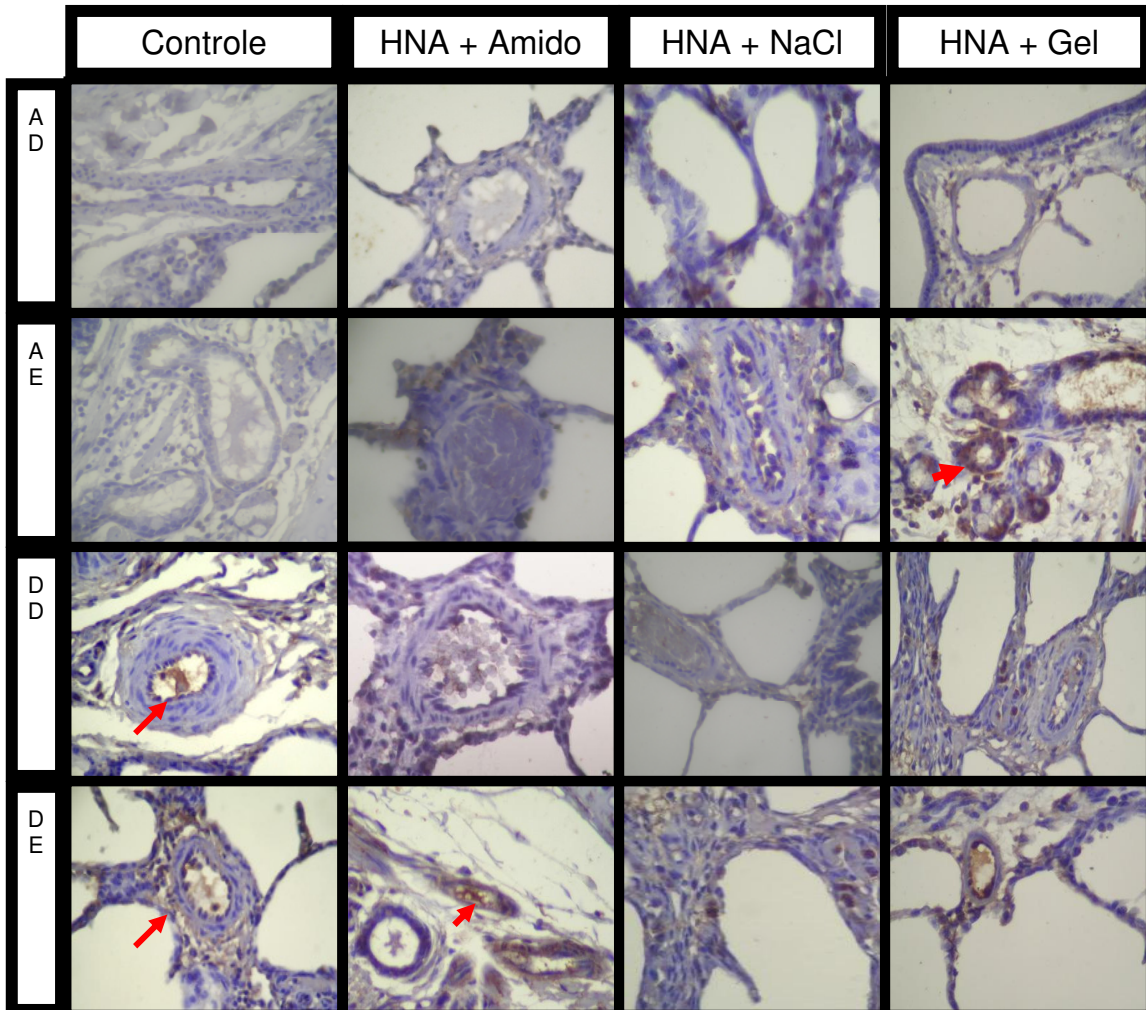
APÊNDICE AX – Padrão microscópico dos lobos pulmonares dos animais do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. HE, 10x. São Paulo, 2009.



APÊNDICE AY – Padrão microscópico da expressão de COX-2 nos leucócitos pulmonares de suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. A seta mostra a imunoreação positiva no citoplasma dos leucócitos. Magnificação 40x. São Paulo, 2009.



APÊNDICE AZ – Padrão microscópico da expressão de E-selectina nas células endoteliais pulmonares suínos do grupo controle e aqueles submetidos ao procedimento de HNA com diferentes soluções de reposição volêmica. A seta mostra a imunoreação positiva no membrana das células endoteliais. Magnificação 40x. São Paulo, 2009.



Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)