

RODRIGO VINCENZI

Efeitos da reposição volêmica com solução salina hipertônica a 3% na resposta inflamatória e na lesão orgânica após choque hemorrágico

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

Área de concentração: Anestesiologia

Orientador: Prof. Dr. Ruy Jorge Cruz Júnior

**São Paulo
2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Vincenzi, Rodrigo

Efeitos da reposição volêmica com solução salina hipertônica a 3% na resposta inflamatória e na lesão orgânica após choque hemorrágico / Rodrigo Vincenzi. -- São Paulo, 2009.

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

Área de concentração: Anestesiologia.

Orientador: Ruy Jorge Cruz Júnior.

Descritores: 1.Choque hemorrágico 2.Solução salina hipertônica 3.Citocinas
4.Síndrome do desconforto respiratório do adulto 5.Modelos animais

USP/FM/SBD-233/09

Dedico este trabalho aos meus pais, Jordano Vincenzi Júnior (in memoriam) e Elizabeth Saab Vincenzi.

Devo a vocês todas as conquistas de minha vida. Sou eternamente grato pelos exemplos que tive de amor, compreensão e honestidade, valores fundamentais na formação de meu caráter.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ruy Jorge Cruz Júnior, idealizador e orientador deste trabalho. Cirurgião brilhante, incansável na busca da perfeição, sempre em benefício do paciente; sem dúvida alguma o maior exemplo que tive durante minha formação como médico. Agradeço por todas as oportunidades, pelos conselhos sempre objetivos e pela grande amizade. É realmente impossível expressar toda a minha gratidão e admiração apenas neste texto.

Ao Prof. Dr. Maurício Rocha e Silva, por permitir, apoiar e incentivar a realização deste trabalho na Divisão de Experimentação do Instituto do Coração. Suas pesquisas pioneiras permitiram a concepção deste trabalho.

À Prof^ª. Dra. Paulina Sannomyia, pesquisadora exemplar, pelo apoio e idéias preciosas durante toda a elaboração deste trabalho. Muito obrigado por ter permitido a realização de parte desta pesquisa em seu laboratório.

Aos meus irmãos, Ricardo Vincenzi e Renata Saab Vincenzi, por todo o carinho, amizade e incentivo ao longo dos anos.

À Dra. Karina Moreira de Oliveira Roda, pelo apoio incondicional à minha vida acadêmica e pela compreensão durante a finalização deste trabalho. O seu amor torna tudo mais fácil.

Aos doutores William Marques Pirani e Lourdes Alves Cepeda, pela disponibilidade e empenho na realização das análises histopatológicas.

À Dra. Creusa Dal Bó, pela dedicação na realização da análise estatística.

À Sra. Eliete Barbosa, pelo apoio durante a realização do experimento na Divisão de Experimentação do Instituto do Coração.

Aos amigos e colaboradores deste trabalho, sempre dispostos a ajudar, Sra. Sueli Gomes, Sr. Nelson Correa Júnior, Sra. Elenice França Lucas, Sr.

Richard Barbosa da Silva, Sr. Leandro e Sr. Roberto. Sem o apoio de vocês este trabalho não seria possível.

A todos os funcionários do Biotério da Divisão de Experimentação, pelo suporte no cuidado dos animais e paciência no início do experimento.

À Fundação E. J. Zerbini, pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	19
3. MÉTODOS	20
3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	20
3.2 ANESTESIA	20
3.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	21
3.4 MODELO DE CHOQUE HEMORRÁGICO	21
3.5 ESQUEMATIZAÇÃO DO PROTOCOLO	24
3.6 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA	25
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
4. RESULTADOS	30
4.1 PESO DOS ANIMAIS E SANGRAMENTO	30
4.2 PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA	30
4.3 ANÁLISE METABÓLICA	33
4.4 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA	39
4.4.1 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	39

4.4.2 ANÁLISE DE LESÃO PULMONAR	39
4.4.3 ANÁLISE DE LESÃO INTESTINAL	40
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÕES	64
7. ANEXOS	65
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
9. APÊNDICE	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA	32
Figura 2 – LACTATO ARTERIAL	37
Figura 3 – OSMOLARIDADE PLASMÁTICA	38
Figura 4 – CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE TNF-α	41
Figura 5 – CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE IL-6	42
Figura 6 – ESCORE DE LESÃO PULMONAR	43
Figura 7 – ESCORE DE LESÃO INTESTINAL	45

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – ESTUDOS SOBRE O TRATAMENTO DO CHOQUE
HEMORRÁGICO COM A SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA A
3% (1986-2009). **18**
- Tabela 2** – VALORES DE PH, BICARBONATO, DÉFICIT DE BASE, PAO₂ E
PACO₂. **35**
- Tabela 3** – VALORES DE HEMOGLOBINA, HEMATÓCRITO, SÓDIO
PLASMÁTICO E GLICEMIA. **36**
- Tabela 4** – MÉDIA DOS PARÂMETROS INDIVIDUAIS DO ESCORE DE
LESÃO PULMONAR POR GRUPO. **44**
- Tabela 5** – MÉDIA DOS PARÂMETROS INDIVIDUAIS DO ESCORE DE
LESÃO INTESTINAL POR GRUPO. **46**

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

CT	controle
RL	Ringer lactato
SH 3%	solução salina hipertônica a 3%
SH 7,5%	solução salina hipertônica a 7,5%
PAM	pressão arterial média
TNF	fator de necrose tumoral
IL	interleucina
ICAM	molécula de adesão intercelular
PECAM	molécula de adesão celular plaqueta-endotélio
PIC	pressão intracraniana
CHC	choque hemorrágico controlado
SF0,9%	solução fisiológica
NaCl	cloreto de sódio
ANOVA	análise de variâncias
EPM	erro padrão da média

mL	mililitro
g	grama
Kg	kilograma
G	força de gravidade
min	minuto
mmHg	milímetros de mercúrio
mOsm/L	miliosmol por litro
h	hora
°C	graus Celsius
µm	micrometro
mEq/L	miliequivalente por litro
mmol	milimolar
L	litro
dL	decilitro
pg	picograma

RESUMO

Vincenzi R. *Efeitos da reposição volêmica com solução salina hipertônica a 3% na resposta inflamatória e na lesão orgânica após choque hemorrágico* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009. 94p.

INTRODUÇÃO: Recentes estudos avaliam o uso da solução salina hipertônica na concentração de 3% no tratamento de pacientes com traumatismos cranioencefálicos, entretanto, poucos trabalhos têm analisado a sua eficácia no tratamento do choque hemorrágico. O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos do tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica a 3%, analisando principalmente seus possíveis efeitos benéficos na atenuação da resposta inflamatória decorrente do choque. Para tal, esta solução será comparada a outras duas, amplamente estudadas: a solução salina hipertônica a 7,5% e a solução de Ringer lactato. **MÉTODOS:** Foram utilizados, neste estudo, 26 ratos Wistar. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico por via intraperitoneal (50 mg/Kg) e, então, submetidos a um protocolo de choque hemorrágico controlado. Neste protocolo, os animais foram sangrados até que fosse atingida uma pressão arterial média (PAM) de 35 mmHg, em um período de 10 minutos, sendo este nível de PAM mantido por 50 minutos. Ao término deste período de choque, os animais foram randomizados em três grupos para reposição volêmica: reposição com solução de Ringer lactato (grupo RL, n=7), na dose de 33 mL/Kg; reposição com solução salina hipertônica a 3% (grupo SH3%, n=7), na dose de 10 mL/Kg; reposição com solução salina hipertônica a 7,5% (grupo SH7,5%, n=7), na dose de 4 mL/Kg. Após a infusão das soluções, metade do volume de sangue retirado foi reinfundido em todos os animais. Sangue arterial foi coletado para análise de gasometria, lactato, concentração plasmática de sódio e osmolaridade plasmática. Para avaliação da resposta inflamatória, os animais foram sacrificados quatro horas após o início do experimento, sendo obtidas amostras de sangue para determinação das concentrações plasmáticas de

interleucina (IL) – 6 e fator de necrose tumoral (TNF) – alfa. Amostras de tecido pulmonar e intestinal foram obtidas para avaliação histopatológica de lesão orgânica, sendo as lâminas analisadas por dois patologistas sem conhecimento prévio dos grupos, determinando-se, assim, um escore de lesão baseado em um sistema de pontuação. **RESULTADOS:** Todos os animais submetidos à reposição volêmica apresentaram valores adequados de PAM ao término do tratamento. Nos animais tratados com as duas concentrações de solução salina hipertônica, a concentração plasmática de sódio e o valor da osmolaridade plasmática foram significativamente maiores, quando comparados aos grupos CT e RL. A concentração plasmática de TNF-alfa foi significativamente maior nos animais tratados com a solução de Ringer lactato, não havendo, para tanto, diferenças estatísticas entre os grupos CT, SH3% e SH7,5%. Em relação a IL-6, não se observou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos CT, SH3% e SH7,5%, sendo a concentração plasmática deste mediador inflamatório significativamente elevada no grupo RL, quando comparado ao grupo CT. O escore de lesão pulmonar foi significativamente maior no grupo RL, em comparação aos grupos SH3% e SH7,5% ($5,7 \pm 0,7$, $2,7 \pm 0,5$, $2,1 \pm 0,4$, respectivamente). Os animais dos grupos SH3% e SH7,5% apresentaram atenuação da lesão intestinal pós-choque em comparação aos animais do grupo RL ($2,3 \pm 0,4$, $2,0 \pm 0,6$, $5,9 \pm 0,6$, respectivamente). **CONCLUSÕES:** O tratamento do choque hemorrágico com as duas concentrações de solução salina hipertônica resultou em atenuação da resposta inflamatória pós-choque. A solução salina hipertônica a 3% apresentou efeitos metabólicos e imunológicos semelhantes à solução salina hipertônica a 7,5%, sendo ambas superiores em relação aos parâmetros estudados à solução de Ringer lactato.

Descritores: 1. Choque hemorrágico; 2. Solução salina hipertônica; 3. Citocinas; 4. Síndrome do desconforto respiratório agudo; 5. Modelos animais.

SUMMARY

Vincenzi R. *Effects of 3% hypertonic saline solution on inflammatory response and end-organ damage after hemorrhagic shock* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009. 94p.

BACKGROUND: Recent studies have been conducted examining the efficacy of 3% hypertonic saline solution (HSS) in traumatic brain injury; however, few studies have analyzed the effects of 3%HSS during hemorrhagic shock. The aim of this study was to test the potential immunomodulatory benefits of 3%HSS resuscitation over standard fluid resuscitation. **METHODS:** Wistar rats were bled to a mean arterial pressure (MAP) of 35 mmHg and then randomized in 3 groups: LR (lactated Ringer, 33mL/Kg, n=7), 3%HSS (10mL/Kg, n=7) and 7.5%HSS (4mL/Kg, n=7). Half of the shed blood was infused after fluid resuscitation. Animals who did not undergo shock served as controls (CT, n=5). Four hours after HS, blood was collected for evaluation of tumor necrosis factor (TNF)-alpha and interleukin (IL)-6 by enzyme immunoassay. Lung and intestinal samples were obtained for histopathological analysis. **RESULTS:** Animals in HSS groups had significantly higher MAP than LR one hour after treatment. Osmolarity and sodium levels were markedly elevated in HSS groups. TNF-alpha and IL-6 levels were similar between CT and HSS groups, but significantly higher in LR ($p < 0.05$). Lung injury score was significantly higher in LR when compared to 7.5%HSS and 3%HSS (5.7 ± 0.7 , 2.1 ± 0.4 and 2.7 ± 0.5 , respectively). Intestinal injury was attenuated in the 7.5%HSS and 3%HSS groups when compared to LR (2.0 ± 0.6 , 2.3 ± 0.4 and 5.9 ± 0.6 , respectively). **CONCLUSIONS:** Small volume resuscitation strategy modulates the inflammatory response and decrease the end-organ damage after HS.

3%HSS provides immunomodulatory and metabolic effects similar to those observed with conventional concentration of HSS.

Descriptors: 1. Hemorrhagic shock; 2. Hypertonic saline solution; 3. Cytokines; 4. Acute respiratory distress syndrome; 5. Animal models.

1. INTRODUÇÃO

Apesar de diversos avanços obtidos principalmente no último século no tratamento do paciente politraumatizado, o trauma permanece como a primeira causa de mortalidade do adulto jovem, em âmbito nacional e mundial (DEMETRIADES et al., 2005; BRASIL, 2006).

As mortes pós-traumáticas ocorrem em três períodos definidos (TRUNKEY, 1983). O primeiro pico de morte ocorre nos primeiros minutos após o trauma, sendo provocada por lesões graves como traumatismos encefálicos extensos e lacerações de grandes vasos. Nesta fase, devido à gravidade das lesões, apenas métodos educacionais e preventivos, além de um serviço de atendimento pré-hospitalar extremamente rápido e efetivo seriam capazes de contribuir para a redução do número de óbitos.

O segundo pico de mortalidade ocorre dentro de minutos a horas depois do trauma, sendo o choque hipovolêmico um dos principais fatores relacionados ao número de óbitos.

O terceiro período de mortalidade ocorre de vários dias a semanas depois do traumatismo inicial, sendo mais frequentemente provocado por sepse e falência de múltiplos órgãos e sistemas. Desta forma, a terapêutica empregada nas duas fases anteriores, possui influência não só nos resultados observados durante o atendimento inicial, mas também nos resultados a médio e longo prazo que serão apresentados pelo paciente.

Assim, o choque hipovolêmico está relacionado com a mortalidade em todas as fases do período pós-trauma, sendo que seu tratamento, quando realizado de maneira incorreta, pode gerar consequências graves ao paciente.

1.1 CHOQUE HEMORRÁGICO

O choque hemorrágico é caracterizado por um estado de hipoperfusão tecidual e redução da oferta de oxigênio às células, em decorrência de um episódio significativo de perda sanguínea. A redução da oferta e da captação de oxigênio neste estado promove alterações importantes do ponto de vista circulatório e metabólico, como ativação do metabolismo anaeróbico celular e alterações macro e microcirculatórias, visando à manutenção da oferta de oxigênio, principalmente para o cérebro e células cardíacas, em detrimento ao território esplâncnico e musculatura esquelética (HARBRECHT et al., 2004). Estas alterações serão mais importantes e suas consequências potencialmente mais graves de acordo com a duração do choque (tempo de isquemia tecidual) e a intensidade deste, sendo que em pacientes politraumatizados, como agravante, são somadas ainda as lesões teciduais diretas decorrentes do trauma (GIANNOUDIS, 2003).

Enquanto nas décadas de 60 e 70 as pesquisas clínicas e experimentais elucidavam principalmente as consequências hemodinâmicas do choque, como, por exemplo, a correlação entre hipovolemia e o

desenvolvimento de insuficiência renal aguda, nas últimas duas décadas, observou-se um grande aumento no número de estudos analisando os efeitos do choque em relação às alterações celulares e moleculares (MOORE et al., 2004a). Desta forma, a resposta inflamatória decorrente do estado de isquemia celular, dentre outros fatores, passou a ser amplamente estudada, influenciando no surgimento de novos conceitos terapêuticos, os quais serão apresentados mais adiante.

1.2 RESPOSTA INFLAMATÓRIA APÓS O CHOQUE HEMORRÁGICO

As alterações microcirculatórias, a isquemia tecidual e a reperfusão de áreas hipoperfundidas, após o tratamento do choque, determinam no organismo respostas que podem promover a ativação de células relacionadas à função imunológica, envolvendo principalmente as células endoteliais, neutrófilos, monócitos, macrófagos e uma série de mediadores inflamatórios (diversas citocinas, fatores do sistema complemento, fator de ativação plaquetária e proteínas de fase aguda, dentre outros) (LIN et al., 2000; CHOILEAIN e REDMOND, 2006). Em condições ótimas, este processo atinge um equilíbrio entre fatores pró e anti-inflamatórios, gerando efeitos limitados. Entretanto, na presença de períodos prolongados de hipoperfusão, ou ainda em portadores de traumatismos extensos e lesões multiorgânicas, esta resposta, inicialmente localizada, pode dar lugar a uma resposta inflamatória sistêmica, sendo caracterizada por uma liberação maciça de mediadores inflamatórios e acúmulo exagerado de células do sistema imune nos tecidos (KEEL e TRENTZ, 2005).

A perpetuação desta resposta, ou a sua amplificação, por meio de outros estímulos (procedimentos cirúrgicos, transfusão de hemocomponentes, infecções secundárias, síndrome compartimental), pode provocar lesão orgânica grave (como a síndrome do desconforto respiratório agudo) ou, ainda, disfunção orgânica múltipla e morte. Outras teorias tentam explicar a progressão do estado de hiperinflamação para a síndrome da disfunção orgânica múltipla, além da teoria da dupla agressão exemplificada acima. Dentre os fatores relacionados a esta síndrome, incluem-se o comprometimento da microcirculação, provocando oferta inadequada de oxigênio às células, metabolismo anaeróbico acentuado, produção e liberação de radicais livres de oxigênio e consequente lesão celular pelo fenômeno de isquemia e reperfusão, além da translocação de bactérias e fatores citotóxicos provenientes do intestino isquêmico, acometendo órgãos distantes através da circulação sanguínea ou linfática (MOORE F e MOORE E, 2004b). Nenhum fator isoladamente completa a fisiopatologia da disfunção de múltiplos órgãos, parecendo haver, na verdade, uma interação de todos estes fenômenos.

O acúmulo de neutrófilos nos tecidos, apontado como um dos principais fatores para a ocorrência de disfunção orgânica, só é possível graças à interação destas células com as células endoteliais (FAIST et al., 2004). Assim sendo, o endotélio possui papel fundamental na resposta inflamatória após o choque e no subsequente desenvolvimento da disfunção orgânica observada em pacientes críticos. Duas funções normalmente

exercidas pelo endotélio são importantes neste período: o controle da permeabilidade vascular e a modulação da adesão e migração leucocitária.

Devido à lesão endotelial, a regulação da permeabilidade vascular encontra-se bastante comprometida no choque hemorrágico. A disfunção e a morte de células endoteliais no choque ocorre principalmente devido à isquemia decorrente do estado de hipoperfusão prolongado, da ação direta de radicais livres de oxigênio e de mediadores inflamatórios presentes na circulação (CRUZ JUNIOR e ROCHA-E-SILVA, 2006). Em última análise, o comprometimento da regulação da permeabilidade vascular causa o extravasamento de proteínas e conseqüentemente líquidos do meio intravascular para o interstício, facilitando também a passagem de mediadores inflamatórios para os tecidos, atuando, desta forma, como fatores de atração para células inflamatórias.

Outra consequência grave da lesão de células endoteliais é a interação desproporcional destas células com os neutrófilos, fenômeno este dividido em três etapas distintas, descritas a seguir (CRUZ JUNIOR e ROCHA-E-SILVA, 2006; PASCUAL et al., 2003a; CERQUEIRA et al., 2005; HIETBRINK et al., 2006).

Na primeira etapa (fase de rolamento), ocorre uma redução na velocidade de circulação de alguns neutrófilos na periferia do vaso e, conseqüentemente, aproximação destas células com as células endoteliais, sendo este processo mediado por moléculas de adesão da classe das selectinas (L-selectina, P-selectina e E-selectina). Como resultado, ocorre

uma interação de baixa afinidade do neutrófilo com a célula endotelial. Na segunda etapa do processo (fase de adesão) ocorre a adesão firme do leucócito com a célula endotelial. Novamente, este processo é possível devido à expressão de moléculas de adesão, expressas no leucócito e na célula endotelial. Os leucócitos expressam moléculas da classe das integrinas (β 2-integrinas), destacando-se a molécula de adesão CD11b/CD18. Uma das moléculas de adesão expressas pelo endotélio mais estudadas é a ICAM-1, promovendo uma ligação estável entre o leucócito e a célula endotelial. A etapa final envolve a migração (diapedese) do neutrófilo ao tecido inflamado. A migração destas células é norteadada por diversos fatores quimiotáticos, como porções do sistema complemento, interleucinas e a molécula de adesão PECAM-1. O pulmão é um dos órgãos mais prejudicados por esta migração leucocitária, sendo a lesão pulmonar uma das mais precoces e graves complicações da resposta inflamatória decorrente do choque hemorrágico (WARE et al., 2000).

Diversos modelos experimentais e estudos clínicos demonstram, mediante análise histopatológica, dosagem de mieloperoxidase e contagem de neutrófilos no lavado broncoalveolar, a correlação existente entre o sequestro de neutrófilos e o desenvolvimento de lesão pulmonar (ANGLE et al., 1998a; RIZOLI et al., 1998; YADA-LANGUI et al., 2000; PASCUAL et al., 2003b).

1.3 TRATAMENTO DO CHOQUE HEMORRÁGICO

Um dos princípios para o tratamento do choque hemorrágico é a restauração do volume intravascular perdido e da capacidade de transporte de oxigênio, melhorando-se, assim, o volume sistólico, o débito cardíaco e a oferta de oxigênio aos tecidos (HARBRECHT et al., 2004). Isto pode ser obtido através da infusão intravenosa de uma série de fluidos, lembrando que, em pacientes com perda volêmica superior a 30%, há ainda a necessidade de infusão de hemácias para que uma adequada oferta de oxigênio seja mantida (SILVA et al., 1996). Juntamente com a reposição volêmica, a medida mais importante é o reconhecimento precoce do local de sangramento e o emprego do tratamento definitivo de maneira rápida, evitando-se, por conseguinte, períodos prolongados de hipoperfusão e reduzindo-se também os efeitos deletérios decorrentes da síndrome de isquemia e reperfusão.

A reposição volêmica clássica em pacientes politraumatizados é realizada através da infusão de grandes quantidades de solução cristalóide isotônica, sendo recomendada a utilização da solução de Ringer lactato pelo *American College of Surgeons* (MOORE et al., 2006). A escolha desta solução é baseada principalmente em estudos clássicos publicados nas décadas de 60 e 70, sendo considerados, ainda, além da eficácia, a segurança na sua utilização e o baixo custo deste tipo de fluido. Entretanto, apesar de sua recomendação e uso ao longo de mais de 40 anos, algumas considerações merecem ser feitas.

A necessidade de grandes volumes de Ringer lactato é justificada pelas características físicas desta solução. Apesar de apresentar a vantagem de possuir uma composição eletrolítica semelhante ao plasma, apenas 1/3 aproximadamente desta solução permanece no meio intravascular, sendo que a maior parte do volume infundido permanecerá no interstício. Desta maneira, a recomendação é de que, para cada parte de volume sangrado, sejam infundidas três partes da solução cristalóide (reposição 3:1), ou seja, em um paciente politraumatizado com perda volêmica estimada em 1500 mL, a necessidade de infusão inicial de cristalóides seria em torno de 4500 mL. Visto que a maior parte do volume infundido permanecerá no meio intersticial, a infusão de grandes volumes pode gerar efeitos indesejados e, algumas vezes, prejudiciais ao paciente, como o desenvolvimento de síndrome compartimental abdominal, hemodiluição grave, coagulopatia e maior propensão à hipotermia (COTTON et al., 2006). Em pacientes politraumatizados portadores de traumatismo cranioencefálico, o extravasamento de fluidos para o interstício pode ainda provocar edema cerebral, aumento da pressão intracraniana e redução da pressão de perfusão cerebral, piorando o prognóstico destes pacientes (ZIAI et al., 2007)

Além das considerações feitas acima, um número crescente de estudos publicados, principalmente a partir da década de 90, passou a avaliar a influência do tipo de fluido utilizado na reposição volêmica e sua capacidade de ativar células do sistema imunológico.

RHEE et al. (1998), em um modelo experimental de choque hemorrágico, demonstraram uma maior ativação de neutrófilos em animais tratados com Ringer lactato, sendo este fenômeno observado também em animais não submetidos ao choque hemorrágico, porém submetidos à infusão da solução. Em outro estudo, realizado por meio da diluição de sangue de voluntários saudáveis (*ex vivo*) com diversos fluidos utilizados na reposição volêmica, os neutrófilos que entraram em contato com o Ringer lactato apresentaram uma maior expressão em sua superfície da integrina CD18 (RHEE et al., 2000). Diversos outros estudos experimentais demonstram também um aumento na produção e liberação de mediadores inflamatórios (como interleucina-6 e fator de necrose tumoral alfa), maior índice de lesão pulmonar provocada por acúmulo de células como neutrófilos e macrófagos e ainda maior incidência de translocação bacteriana em animais submetidos ao choque hemorrágico e tratados com Ringer lactato (RIZOLI et al., 1998; YADA-LANGUI et al., 2000; STAUDENMAYER et al., 2005).

A busca por alternativas aos cristaloides utilizados na reposição volêmica não é uma novidade, haja vista o número de estudos antigos comparando os cristaloides com soluções coloides (CHOI et al., 1999). O uso de soluções coloides para esta finalidade apresenta algumas restrições, como o alto custo em comparação aos cristaloides e efeitos adversos consideráveis, como alterações na coagulação (mais proeminente com o uso de hidroxietilamido) e reações anafiláticas (principalmente com o uso de gelatinas) (NOLAN, 2001). Em estudo conduzido por LEE et al. (2005), ratos

hipovolêmicos, tratados com uma solução colóide à base de gelatina, apresentaram elevações persistentes de interleucina (IL) – 6 e fator de necrose tumoral (TNF) – α , significativamente maiores do que em animais tratados com Ringer lactato e hidroxietilamido.

O uso de hemoderivados no tratamento do choque hemorrágico apresenta também algumas restrições, já que o risco de contaminação por doenças transmitidas desta forma não é desprezível, apesar dos controles cada vez mais rigorosos nos bancos de sangue (SILVA et al., 1996). Além do risco de contaminação, o sangue estocado (principalmente após a segunda semana de armazenamento) tem sido implicado como uma substância capaz de ativar neutrófilos e, com isto, desencadear alterações imunológicas em seu receptor. Alguns dos fatores listados como possíveis causadores são a liberação de fatores citotóxicos, através da degradação das membranas de células vermelhas; a presença de citocinas no sangue estocado (IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α), e alterações no formato das hemácias (MOORE et al., 2004a; MARIK e CORWIN, 2008). Com isso, o uso de hemoderivados, utilizados em maiores proporções durante o período da Segunda Guerra Mundial, apresenta, na atualidade, indicações cada vez mais precisas.

A recente preocupação sobre os efeitos imunológicos provocados pelos diversos tipos de fluidos utilizados no tratamento do choque hemorrágico motivou a realização de pesquisas com o intuito de se encontrar uma solução que fosse capaz não só de restabelecer os padrões

hemodinâmicos, mas também com propriedades imunomoduladoras capazes de interferir na resposta inflamatória de maneira positiva. Posto isto, novas soluções e drogas com estas características vêm sendo testadas, como a pentoxifilina (combinada com alguma solução), a solução de etilpiruvato e a solução salina hipertônica, sendo esta abordada, com detalhes, abaixo (TAWADROUS et al., 2002; CRUZ JUNIOR et al., 2006a; COIMBRA et al., 2005; DEREË et al., 2007; STAHEL et al., 2007).

1.3.1 TRATAMENTO DO CHOQUE HEMORRÁGICO COM A SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA A 7,5%.

O interesse pelo uso da solução salina hipertônica para o tratamento do choque hemorrágico surgiu a partir de dois estudos publicados em 1980. Em um estudo experimental, a infusão de um baixo volume de solução de cloreto de sódio na concentração de 7,5% (volume infundido equivalente a apenas 10% do volume sangrado) em cães submetidos ao choque hemorrágico, foi capaz de restaurar a pressão arterial média, o débito cardíaco e o fluxo mesentérico nestes animais (VELASCO et al., 1980). O outro estudo do mesmo ano foi o primeiro trabalho a avaliar o uso da solução salina hipertônica a 7,5% em humanos. Neste trabalho, alíquotas de 50 mL (até o máximo de 400 mL) foram infundidas em 12 pacientes portadores de choque hipovolêmico refratário, sendo observados benefícios hemodinâmicos após o tratamento (DE FELIPPE et al., 1980).

Diversos mecanismos fisiológicos estão envolvidos nos efeitos da infusão desta solução. A expansão volêmica ocorre basicamente pelo componente físico da solução, sendo a transferência de água para o compartimento intravascular provocada pelo elevado gradiente osmótico gerado (ROCHA-E-SILVA E POLI DE FIGUEIREDO, 2005). Como consequência, ocorre o ganho de aproximadamente 2,75 mL de plasma para cada 1 mL de solução salina hipertônica infundido, enquanto que o ganho intravascular obtido com o uso de soluções isotônicas é de aproximadamente 0,33 mL para cada 1 mL infundido (VELASCO et al., 1980).

As hemácias e o endotélio são os maiores contribuintes para a expansão plasmática, conforme demonstrado por MAZZONI et al. (1988). Esta perda de aproximadamente 8% de seus volumes, além de provocar a expansão plasmática e, com isso, elevação da pressão arterial média e aumento do débito cardíaco, promove efeitos benéficos na microcirculação. O edema das células vermelhas e das células endotélias provocados pelo choque é capaz de aumentar a resistência ao fluxo microcirculatório, sendo esta alteração corrigida pela perda de volume destas células após o contato com o ambiente hipertônico, além de redução da resistência vascular devido à hemodiluição obtida. Outro mecanismo importante para a melhora do fluxo micro e macrocirculatório é a vasodilatação que ocorre devido ao efeito da hipertonidade na musculatura vascular, resultando em aumento de fluxo para territórios geralmente hipoperfundidos durante o choque hemorrágico,

como rins, intestinos e musculatura esquelética (ROCHA-E-SILVA et al., 1986).

A partir da década de 90, alterações positivas na resposta imunológica passaram a ser relacionadas ao uso da solução salina hipertônica. Em uma série de estudos experimentais (*in vitro* e *in vivo*), COIMBRA et al. (1995, 1996, 1997) observaram que a reposição volêmica com solução salina hipertônica a 7,5% em animais submetidos ao choque hemorrágico era capaz de estimular a proliferação de células T, reduzir as concentrações plasmáticas de prostaglandina E2 e de IL-4 e, ainda, diminuir a mortalidade e o nível de lesão pulmonar induzida pelo choque, sendo estes dois últimos efeitos observados em um modelo de choque hemorrágico e sepse. A partir destes trabalhos, diversos outros autores passaram a investigar os mecanismos pelos quais esta solução seria capaz de interferir na resposta inflamatória desencadeada pelo choque hemorrágico. ANGLE et al. (1998b) demonstraram, em modelo de choque hemorrágico controlado em camundongos, uma redução significativa na expressão da molécula de adesão L-selectina nos neutrófilos de animais tratados com a solução salina hipertônica a 7,5%, o mesmo não ocorrendo no grupo que recebeu a solução de Ringer lactato.

Outros autores correlacionaram a atenuação da lesão em órgãos distantes (como os pulmões e o intestino) com as interações entre as células polimorfonucleares e o endotélio. Em um modelo de choque hemorrágico controlado, YADA-LANGUI et al. (2004) revelaram, mediante microscopia

intravital, uma redução na aderência de leucócitos no endotélio de vênulas da fáscia espermática de ratos tratados com a solução salina hipertônica, ocorrendo o contrário após o tratamento com Ringer lactato. Neste mesmo trabalho, os autores observaram, no grupo da solução hipertônica, diminuições no grau de lesão pulmonar, níveis de mieloperoxidase no tecido pulmonar e expressão de ICAM-1 no endotélio pulmonar. Devido à influência benéfica exercida por esta solução na resposta imunológica, a utilização da solução salina hipertônica vem sendo estudada não só no choque hemorrágico, mas também em outras condições críticas, como no choque séptico e na pancreatite aguda (GARRIDO et al., 2006; MACHADO et al., 2006).

Em comparação ao grande número de estudos experimentais, poucos estudos clínicos foram realizados até o momento. A maior parte destes estudos analisa apenas os efeitos hemodinâmicos da solução salina hipertônica a 7,5%, demonstrando - em pacientes vítimas de trauma - os mesmos efeitos positivos observados em animais (MATTOX et al., 1991; VASSAR et al., 1993; WADE et al., 1997). Apenas recentemente os efeitos imunomoduladores foram estudados em humanos. O primeiro destes estudos, realizado por RIZOLI et al., em 2006, analisou 27 pacientes vítimas de traumatismo fechado: 13 destes pacientes receberam 250 mL de solução salina hipertônica a 7,5% com dextran, e 14, receberam 250 mL de solução salina fisiológica. Para tanto, a reposição foi complementada com cristaloides em todos os pacientes, conforme a necessidade. Observou-se, nos pacientes que receberam a solução hipertônica, uma redução na

expressão de CD 11b e na produção de TNF- α , além de um aumento nos níveis de IL-10. Outro estudo realizado em 2007, por BULGER et al., encontrou resultados semelhantes em 36 pacientes tratados com solução hipertônica a 7,5% e dextran, comparados a 26 pacientes tratados com Ringer lactato.

Por um lado, apesar dos resultados positivos obtidos em diversos estudos experimentais e em alguns clínicos, o uso da solução salina hipertônica, na concentração de 7,5%, permanece proibido em alguns países, como Estados Unidos e Canadá. O baixo número de pacientes envolvidos nos estudos clínicos, disponíveis até o momento, talvez seja um dos fatores contribuintes para esta restrição, apesar de não serem observadas complicações decorrentes do uso da solução salina hipertônica a 7,5% nestes trabalhos. Por outro lado, uma concentração menor desta solução (NaCl 3%) é liberada para uso clínico nestes países, sendo utilizada no tratamento de hiponatremia e em pacientes com edema cerebral, de origem traumática ou não, observando-se bons resultados com o seu uso no controle da pressão intracraniana (AYUS et al., 1982; KHANNA et al., 2000; ZIAI et al., 2007, TYAGI et al., 2007). Um dos motivos para a escolha desta concentração, para uso em pacientes com hipertensão intracraniana, é a semelhança em relação à osmolaridade da solução salina hipertônica a 3% (1026 mOsm/Kg) e da solução de manitol a 20% (1098 mOsm/Kg), utilizada há anos nesta classe de pacientes (HUANG et al., 2006).

Considerando-se que muitos pacientes portadores de traumatismo cranioencefálico podem apresentar, concomitantemente, algum grau de choque hemorrágico, decorrente de outras lesões, a infusão de solução salina hipertônica a 3%, nestes pacientes, poderia gerar efeitos benéficos não apenas no controle do edema cerebral, mas também no tratamento do choque. Entretanto, poucos estudos, até o momento, avaliaram o uso da solução salina hipertônica a 3% no tratamento do choque hemorrágico, sendo encontrados na literatura apenas um estudo clínico e cinco experimentais (GUNNAR et al., 1986; HOLCROFT et al., 1987; POLI DE FIGUEIREDO et al., 2005; VAID et al., 2006; WATTERS et al., 2006; PINTO et al., 2006).

Destes estudos, a maioria compara os efeitos hemodinâmicos e metabólicos da infusão de solução salina hipertônica a 3% com os efeitos da infusão de grandes volumes de cristaloides, sendo que apenas WATTERS et al. (2006) compararam os efeitos da solução hipertônica a 3% e 7,5% (os dados referentes a estes trabalhos encontram-se resumidos na Tabela 1). Neste estudo, as duas concentrações de solução salina hipertônica foram eficazes em melhorar os padrões hemodinâmicos e metabólicos dos animais submetidos ao choque hemorrágico não controlado.

Apesar de estes trabalhos demonstrarem a eficácia da solução salina hipertônica a 3% no restabelecimento dos padrões hemodinâmicos após o choque hemorrágico, nenhum estudo até o momento avaliou os possíveis efeitos imunomoduladores desta solução, como os que ocorrem com o uso

da solução salina hipertônica a 7,5%, já bem documentados na literatura médica.

Tabela 1. Estudos sobre o tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica a 3% (1986-2009).

Autores	Amostra	Métodos	Dose utilizada de SH 3%	Resumo dos resultados
GUNNAR et al., 1986	Cães	CHC. Comparação com RL e dextran 40 a 10%. Medidas de PAM e PIC.	~ 31 mL/Kg	Restauração da PAM e diminuição da PIC no grupo tratado com SH 3%.
HOLCROFT et al., 1987	Pacientes politraumatizados	Pacientes hipotensos submetidos a procedimentos cirúrgicos. Comparação com RL.	Doses repetidas de 4 mL/Kg (máximo de 12 mL/Kg). Doses complementares de cristalóides conforme necessidade.	Melhora da PAM, pH e débito urinário no grupo tratado com SH 3%. Volume complementar de cristalóides reduzido pela metade, em comparação ao grupo que recebeu RL.
POLI DE FIGUEIREDO et al., 2005	Cães	CHC. Reposição com SH3%D ou transfusão do volume total sangrado. Análise da PAM, débito cardíaco e fluxo mesentérico.	25% do volume de sangue retirado para indução do choque (~ 7,4 mL/Kg).	Melhora dos padrões hemodinâmicos e sistêmicos nos dois grupos.
VAID et al., 2006	Ovelhas	CHC. Reposição até PAM alvo de 90 mmHg ou 65 mmHg. SH 3% vs RL.	Infusão contínua até PAM alvo de 90 mmHg (~ 19 mL/Kg) ou 65 mmHg (~ 13 mL/Kg)	Necessidade de fluidos reduzida no grupo SH 3%. Sem diferenças hemodinâmicas ou metabólicas em relação ao grupo RL.
WATTERS et al., 2006	Porcos	Choque hemorrágico não controlado. Grupos: SF0,9%, SH3%, SH3%D, SH7,5%, SH7,5%D.	Bolus de 250 mL (~ 7,6 mL/Kg)	Aumento prolongado na PAM e saturação de oxigênio nos grupos SH3%D e SH7,5%D.
PINTO et al., 2006	Cães	CHC e traumatismo cerebral. Comparação com RL. Medidas hemodinâmicas e PIC.	8 mL/Kg	Melhora hemodinâmica nos dois grupos. Redução da PIC no grupo SH 3%.

Nota: **CHC:** choque hemorrágico controlado. **SH 3%:** solução hipertônica a 3%. **RL:** solução de Ringer lactato. **PAM:** pressão arterial média. **PIC:** pressão intracraniana. **SH3%D:** solução hipertônica a 3% com a adição de dextran. **SH7,5%D:** solução hipertônica a 7,5% com a adição de dextran. **SF0,9%:** solução de NaCl a 0,9%.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo são:

- 1- Avaliar os efeitos da reposição volêmica, com a solução salina hipertônica a 3%, na pressão arterial média em ratos submetidos ao choque hemorrágico;
- 2- Analisar os efeitos do tratamento do choque hemorrágico, com a solução salina hipertônica a 3%, na concentração sanguínea de alguns mediadores inflamatórios e nas alterações inflamatórias histopatológicas do pulmão e do intestino delgado;
- 3- Comparar os resultados decorrentes da utilização da solução salina hipertônica a 3% com os obtidos com a solução de NaCl a 7,5% e a solução de Ringer lactato.

3. MÉTODOS

3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Este estudo foi desenvolvido na Divisão de Experimentação do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em aderência aos princípios do *National Institute of Health* (1985) e *The American Physiological Society* (1995) para o cuidado, manipulação e utilização de animais de laboratório, após aprovação pela Comissão Científica do Departamento de Cardiopneumologia e pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Foram utilizados 26 ratos machos, de linhagem Wistar, provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pesando entre 230 e 315g, sendo mantidos no Biotério da Divisão de Experimentação do Instituto do Coração, com temperatura, umidade e período claro-escuro controlados, sem restrições à ingestão de água e à ração.

3.2 ANESTESIA

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico (50 mg/Kg) e mantidos em ventilação espontânea.

Doses complementares de pentobarbital, de 2 a 4 mg/Kg, por injeção intraperitoneal, foram utilizadas quando necessário, para a manutenção do plano anestésico.

3.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Todo procedimento cirúrgico foi realizado com material esterilizado. Os animais eram posicionados em decúbito dorsal, em placas metálicas, com as patas fixas às laterais e cobertos com campos cirúrgicos estéreis, expondo-se apenas as regiões femorais direita e esquerda, para dissecações e canulações da artéria femoral bilateralmente, sendo, para isto, utilizados cateteres de Intracath® 22G (Becton-Dickinson, Sandy, UT). O cateter da artéria femoral direita foi conectado a um transdutor de pressão e, em seguida, a um monitor (Biomonitor 7, Bese, Brasil) para registro da pressão arterial média (PAM). O cateter da artéria femoral esquerda foi utilizado para indução e manutenção do choque hemorrágico, por meio da retirada ou reinfusão de sangue, e para a infusão dos fluidos para reposição volêmica.

3.4 MODELO DE CHOQUE HEMORRÁGICO

O choque hemorrágico foi induzido pela retirada de sangue em alíquotas sucessivas através do catéter posicionado na artéria femoral esquerda, utilizando-se seringas previamente heparinizadas, com o objetivo

de se atingir uma PAM de 35 mmHg, em um período de 10 minutos. Este nível de choque foi mantido por um período adicional de 50 minutos, pela retirada ou reinfusão de sangue em casos de alteração na PAM de pelo menos ± 5 mmHg. Após o período de choque induzido, os animais foram randomizados em três grupos experimentais de reposição volêmica, além de um grupo controle:

- **Grupo CT** (n=5) – Os animais foram anestesiados e submetidos à cateterização vascular como nos outros animais, sem indução do choque ou qualquer tipo de reposição volêmica (grupo-controle);
- **Grupo RL** (n=7) – Os animais receberam a infusão de 33 mL/Kg de solução de Ringer lactato (273 mOsm/L - Baxter®), em um período de 15 minutos;
- **Grupo SH 7,5%** (n=7) – Os animais receberam a infusão de 4 mL/Kg de solução salina hipertônica de NaCl a 7,5% (2400 mOsm/L), em um período de 5 minutos;
- **Grupo SH 3%** (n=7) – Os animais receberam a infusão de 10 mL/Kg de solução salina hipertônica de NaCl a 3% (1026 mOsm/L), em um período de 10 minutos.

Nos três grupos submetidos à reposição volêmica, após o término da infusão das soluções, foi realizada a reinfusão de metade do sangue

retirado, em um período de 5 minutos, sendo a PAM observada até que fosse completada uma hora após o início da reposição volêmica (consequentemente duas horas após a indução do choque hemorrágico).

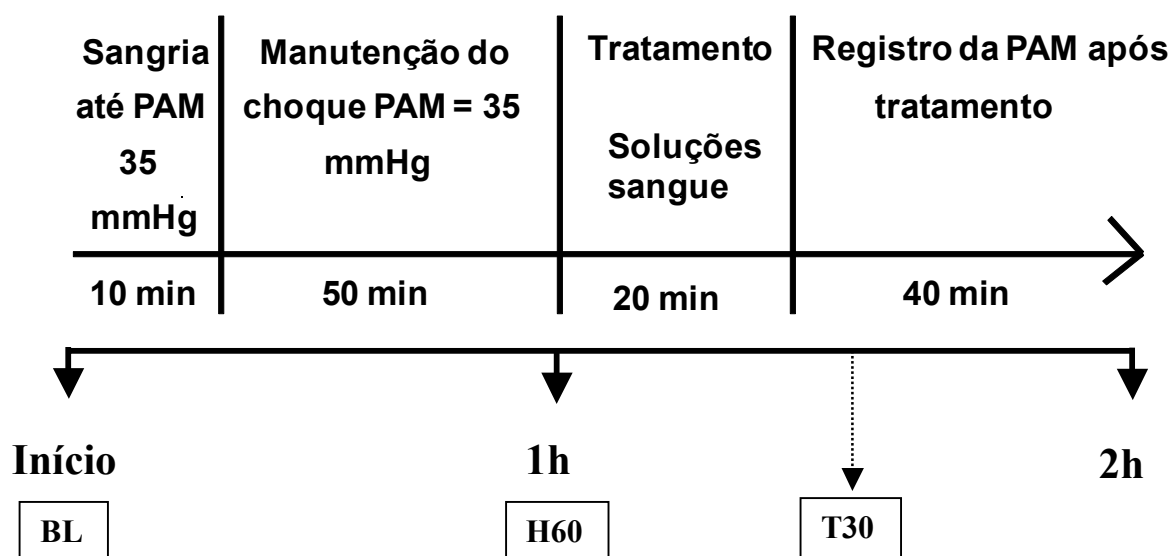
Com o objetivo de avaliar as alterações metabólicas provocadas pelo choque hemorrágico e, em seguida, analisar a efetividade dos tratamentos utilizados na adequação da perfusão tecidual, foram coletadas amostras de sangue arterial para determinação do pH, lactato, déficit de base, bicarbonato, concentração de hemoglobina, glicemia e gasometria. Devido às diferentes osmolaridades e concentrações de cloreto de sódio nos fluidos estudados, foram determinadas também a osmolaridade plasmática e os níveis plasmáticos de sódio.

Todas estas análises foram feitas por meio de coleta de amostras de sangue arterial (0,3 mL em cada amostra) em seringas heparinizadas antes do início da indução do choque hemorrágico (momento BL), ao término do período de manutenção do choque (momento H60) e 30 minutos após o início do tratamento (momento T30). As amostras coletadas foram analisadas no aparelho Stat Profile Ultra C (Nova Biomedical, Waltham, MA – USA).

Logo após o término do período de observação da pressão arterial média (duas horas após o início do experimento), foram retirados os cateteres, suturando-se o local da incisão (fio mononylon vascular 4-0, Ethicon Johnson & Johnson, SP – Brasil). Os animais foram então mantidos no

biotério, em gaiolas individuais aquecidas, com água à vontade, por um período adicional de duas horas, sendo que, ao término deste período, foram sacrificados para o estudo das alterações inflamatórias, decorrentes do choque hemorrágico.

3.5 ESQUEMATIZAÇÃO DO PROTOCOLO EXPERIMENTAL



BL, H60 e T30: Coleta de sangue para análise metabólica.

4h após a indução do choque hemorrágico:

- Determinação de TNF- α e IL-6
- Análise histopatológica do intestino delgado
- Análise histopatológica pulmonar

3.6 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Nesta etapa, a resposta inflamatória foi avaliada após a reposição volêmica, pela determinação dos níveis sanguíneos de duas citocinas com importantes propriedades pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) e também pela análise histopatológica de dois órgãos relacionados à disfunção de múltiplos órgãos: o pulmão e o intestino delgado.

3.6.1 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE TNF – α E IL-6

Quatro horas após a indução do choque hemorrágico, os animais (n=26) foram novamente anestesiados com injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico (50mg/Kg). Através de uma laparotomia, a aorta abdominal foi dissecada e um cateter (Angiocath® 20G, Becton-Dickinson, Sandy, UT – USA) introduzido para a retirada de sangue e sacrifício do animal por exsanguinação.

Parte do sangue retirado foi posto em um tubo a vácuo com EDTA (Becton-Dickinson, Sandy, UT - USA) e centrifugado a aproximadamente 1000 x g por 20 minutos. Ao término da centrifugação, o plasma foi separado e armazenado em microtubos de 1,5 mL (Eppendorf AG, Hamburg – Alemanha), sendo mantidos a – 70°C até o processamento das amostras. Para determinação dos níveis séricos de TNF – α e IL-6, foram utilizados kits comercialmente disponíveis para imunoenensaio enzimático, específicos para a análise das substâncias citadas em ratos (Quantikine Rat IL-6 e Quantikine

Rat TNF- α , R&D Systems Inc., Minneapolis, MN - USA). Todas as análises foram feitas em duplicata.

3.6.2 COLETA E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO INTESTINO DELGADO

Após o sacrifício dos animais (n=26), quatro horas após a indução do choque hemorrágico, um segmento de íleo terminal de aproximadamente 5 cm foi retirado para análise histopatológica, sendo o tecido coletado em frasco, contendo solução de formol a 10 % tamponado e armazenado por, pelo menos, uma semana. Fragmentos de íleo foram, então, incluídos em parafina, cortados em micrótomo (2 a 4 μ m), colocados em lâminas, corados com hematoxilina/eosina e também com ácido periódico de Schiff (PAS) e analisados em microscópio óptico comum (Olympus CH2 – Micronal – Brasil) com magnificação de 100x, por dois patologistas independentes, ambos sem conhecimento prévio dos grupos em estudo.

Os parâmetros observados para determinação das alterações inflamatórias no tecido intestinal foram os seguintes:

- grau de lesão na membrana basal;
- edema;
- congestão;
- infiltrado de células inflamatórias.

Cada um destes parâmetros foi avaliado por um escore com escala de zero a três, tomando-se como parâmetro normal um animal não operado, sendo atribuído: valor zero, à ausência de alterações; um, para alterações leves; dois, para alterações moderadas, e três, para alterações graves. O escore total correspondente às alterações inflamatórias foi feito pela soma dos valores atribuídos a cada parâmetro para cada animal, sendo, posteriormente, calculados a média e o erro padrão da média para cada grupo estudado (CT, RL, SH 7,5% e SH 3%).

3.6.3 COLETA E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO PULMÃO

Após o sacrifício dos animais (n=26), quatro horas após a indução do choque hemorrágico, foi realizada uma esternotomia mediana e o pulmão direito foi retirado e armazenado em um frasco, contendo solução de formol a 10% tamponado, permanecendo armazenado ao menos por uma semana.

Fragmentos de tecido pulmonar foram então incluídos em parafina, cortados em micrótomo (3 a 5 μ m), colocados em lâminas, corados por hematoxilina/eosina e analisados em microscópio óptico comum (Olympus CH2 – Micronal – Brasil), por dois patologistas independentes, sem conhecimento prévio dos grupos em estudo. A análise microscópica das alterações inflamatórias encontradas no tecido pulmonar foi avaliada qualitativamente, em toda a lâmina, analisando-se os seguintes parâmetros:

- edema alveolar;
- congestão;

- infiltrado intersticial de neutrófilos;
- infiltrado intersticial de linfócitos.

Cada um destes parâmetros foi avaliado por um escore com escala de zero a três, tomando-se como parâmetro normal um animal não operado, sendo atribuído: valor zero, à ausência de alterações; um, para alterações leves; dois, para alterações moderadas, e três, para alterações graves. O escore total correspondente às alterações inflamatórias foi feito pela soma dos valores atribuídos a cada parâmetro para cada animal, sendo, posteriormente, calculados a média e o erro padrão da média para cada grupo estudado (CT, RL, SH 7,5% e SH 3%).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados apresentados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM).

As alterações referentes à pressão arterial média foram analisadas mediante análise de variâncias (ANOVA) com medidas repetidas, para avaliação do comportamento de cada grupo ao longo dos diversos momentos. Para a constatação de diferenças entre os grupos, foi realizada a correção de Bonferroni para o teste de ANOVA.

O teste de ANOVA foi utilizado também na avaliação dos dados obtidos no estudo das alterações metabólicas.

Para análise dos dados referentes aos níveis de TNF- α , IL-6, histopatologia intestinal e histopatologia pulmonar, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn.

Considerou-se o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo em todas as análises.

4. RESULTADOS

4.1 PESO DOS ANIMAIS E VOLUME DE SANGRAMENTO

Não houve diferença estatisticamente significativa entre o peso médio dos animais nos quatro grupos estudados, observando-se os seguintes valores, expressos em gramas (g) e descritos como média \pm erro padrão da média (EPM): 285 \pm 9 no grupo CT, 284 \pm 10 no grupo RL, 274 \pm 9 no grupo SH 7,5% e 275 \pm 9 no grupo SH 3%.

Em relação ao volume de sangue retirado para indução e manutenção do choque hemorrágico, não se observou novamente diferença estatisticamente significativa entre os grupos submetidos ao choque hemorrágico. O volume médio sangrado nos animais do grupo RL, em mililitros (mL), foi de 8,94 \pm 0,46, sendo de 8,77 \pm 0,15 no grupo SH 7,5% e 9,14 \pm 0,42 no grupo SH 3% (valores expressos como média \pm EPM). Considerando-se a volemia do rato como sendo de aproximadamente 5,4 mL/100g de peso, o volume de sangramento total correspondeu a cerca de 60% da volemia basal de cada animal (HIRANO et al., 2003).

4.2 PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA

Os valores médios de pressão arterial média (PAM) no início do experimento (antes da indução do choque hemorrágico) não apresentaram

diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos. O grupo CT apresentou valores praticamente constantes de PAM durante todo o período de monitoração, observando-se pequenas oscilações ao longo do experimento. Os animais dos grupos RL, SH 7,5% e SH 3% apresentaram valores semelhantes de pressão arterial média durante o período de indução e manutenção do choque (Figura 1).

Ao término do período de observação, os dois grupos tratados com a solução salina hipertônica (SH 7,5% e SH 3%), apresentaram valores de PAM semelhantes aos valores basais, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre estes dois grupos e o grupo controle (Figura 1).

A reposição volêmica com a solução de Ringer lactato foi também efetiva no controle da hipotensão. Ao término do período de infusão dos fluidos no grupo RL, não foram observadas diferenças entre a PAM pós-tratamento e a PAM basal nos momentos T30 e T45 (30 e 45 minutos após o início da reposição volêmica, respectivamente), assim como não foram observadas diferenças entre este grupo (RL) e os grupos CT, SH 7,5% e SH 3% nestes mesmos momentos. Entretanto, ao término do período de monitoração (T60), observou-se um nível de PAM significativamente menor nos animais tratados com Ringer lactato em relação ao momento basal e ao grupo controle (Figura 1).

Como esperado, devido ao método utilizado, a infusão de volume foi significativamente maior ($p < 0,001$) nos animais do grupo RL (média de $9,4 \pm$

0,3 mL de solução de Ringer lactato) em relação aos grupos SH 7,5% (média de 1,1 ± 0,1 mL de solução de NaCl a 7,5%) e SH 3% (média de 2,8 ± 0,1 mL de solução de NaCl a 3%).

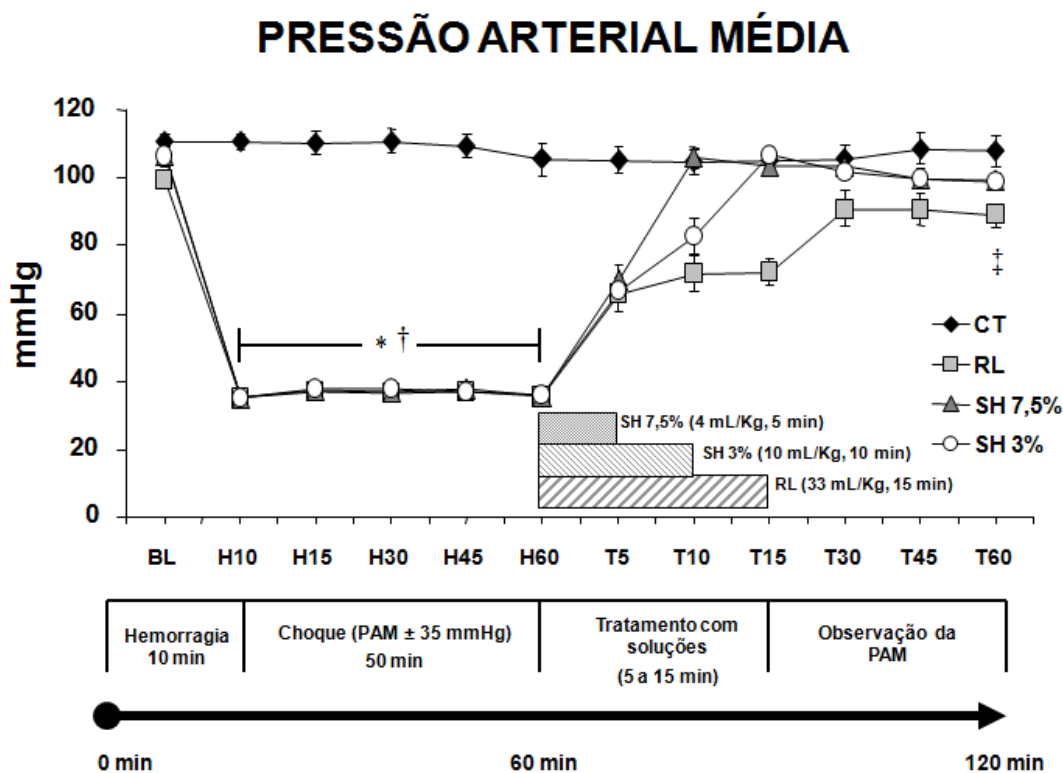


Figura 1. Pressão arterial média, em mmHg (média ± EPM), dos animais do grupo-controle (CT, n=5, sem indução de choque ou reposição volêmica) e dos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais conforme o tratamento utilizado: RL (n=7, Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg, infundidos em 15 min, seguido da infusão de metade do sangue retirado, durante 5 min), SH 7,5% (n=7, NaCl 7,5%, 4 mL/Kg infundidos em 5 min, seguido da infusão de metade do sangue retirado, durante 5 min) e SH 3% (n=7, NaCl 3%, 10 mL/Kg infundidos em 10 min, seguido da infusão de metade do sangue retirado, durante 5 min).

* p<0,05 vs CT; † p<0,05 vs BL; ‡ p<0,05 vs CT e BL para o grupo RL.

4.3 ANÁLISE METABÓLICA

Os valores de pH, bicarbonato, déficit de base, lactato, gasometria arterial, glicemia e concentração de hemoglobina foram semelhantes em todos os grupos no início do experimento (Tabelas 2 e 3).

Ao término do choque hemorrágico (H60), notou-se um grande aumento nos níveis de lactato arterial e redução nos valores de bicarbonato e déficit de base, de maneira semelhante entre os grupos RL, HS 7,5% e HS 3%, com diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle, indicando a gravidade do choque e conseqüentemente o estado de hipoperfusão tecidual (Tabela 2, Figura 2).

Ao término do período de tratamento do choque hemorrágico (T30), não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nos níveis de lactato, bicarbonato, déficit de base, hemoglobina, glicemia, pressão parcial de oxigênio e pressão parcial de gás carbônico entre os grupos submetidos à reposição volêmica com as três soluções estudadas, havendo entretanto, diferenças entre esses grupos e o grupo-controle (Tabelas 2 e 3, Figura 2). Do ponto de vista metabólico, com exceção do grupo-controle, todos os grupos apresentaram níveis semelhantes de choque hemorrágico e os três tipos de tratamento utilizados resultaram em melhorias semelhantes.

4.3.1 OSMOLARIDADE PLASMÁTICA E SÓDIO PLASMÁTICO

Não houve diferença significativa nos níveis de osmolaridade e sódio plasmático entre os grupos controle e o grupo RL nos três momentos avaliados (antes do choque hemorrágico, após o choque hemorrágico e após a reposição volêmica).

Ao término da reposição volêmica, os animais dos grupos SH 7,5% e SH 3% apresentaram níveis de osmolaridade e de sódio plasmático, significativamente elevados, quando comparados aos animais do grupo-controle e aos animais tratados com Ringer lactato. No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nestes parâmetros entre os grupos tratados com concentrações diferentes de solução salina hipertônica (Tabela 3, Figura 3).

Tabela 2. Valores de pH, bicarbonato, déficit de base, PaO₂ e PaCO₂.

	GRUPOS	BL	H60	T30
pH	CT	7,48 ± 0	7,44 ± 0,01 [*]	7,42 ± 0,02 ^{*†}
	RL	7,46 ± 0,01	7,36 ± 0,01 [*]	7,33 ± 0,02 ^{*†}
	SH 7,5%	7,47 ± 0,01	7,37 ± 0,02 [*]	7,35 ± 0,02 ^{*†}
	SH 3%	7,46 ± 0,02	7,38 ± 0,02 [*]	7,33 ± 0,02 ^{*†}
	Bicarbonato (mEq/L)	CT	34,4 ± 0,7	35,3 ± 1,4
	RL	32,8 ± 1,3	18,8 ± 1,2 ^{*‡}	27,8 ± 1,8 ^{*†‡}
	SH 7,5%	34,3 ± 0,4	17,3 ± 1,2 ^{*‡}	25,2 ± 0,9 ^{*†‡}
	SH 3%	33,3 ± 1,2	17,8 ± 1,8 ^{*‡}	26,8 ± 1,5 ^{*†‡}
Déficit de Base (mEq/L)	CT	10,7 ± 0,7	10,9 ± 1,2	10,4 ± 1,1
	RL	8,8 ± 1,1	-6,8 ± 1,3 ^{*‡}	1,7 ± 1,7 ^{*†‡}
	SH 7,5%	10,4 ± 0,3	-8,2 ± 1,4 ^{*‡}	-0,6 ± 1,1 ^{*†‡}
	SH 3%	9,3 ± 1,1	-7,5 ± 2,2 ^{*‡}	0,6 ± 1,9 ^{*†‡}
	PaO₂ (mmHg)	CT	80,8 ± 3,1	79,3 ± 1,5
RL		69,4 ± 3,0	115,3 ± 3,3 ^{*‡}	82,4 ± 6,0 ^{*†‡}
SH 7,5%		72,1 ± 4,5	113,4 ± 4,3 ^{*‡}	99,5 ± 3,2 ^{*†‡}
SH 3%		73,8 ± 4,9	119,6 ± 3,6 ^{*‡}	93,3 ± 3,5 ^{*†‡}
PaCO₂ (mmHg)		CT	46,1 ± 1,1	52,1 ± 3,4
	RL	46,1 ± 3,2	33,1 ± 1,8 ^{*‡}	53,1 ± 4,7 ^{*†‡}
	SH 7,5%	46,8 ± 1,9	29,8 ± 2,1 ^{*‡}	46,0 ± 2,1 ^{*†‡}
	SH 3%	46,8 ± 2,9	29,3 ± 1,7 ^{*‡}	50,3 ± 1,6 ^{*†‡}

Nota 1: CT (n=5), grupo-controle, sem indução de choque ou tratamento; RL (n=7), tratamento com 33 mL/Kg de Ringer lactato; SH 7,5% (n=7), tratamento com 4 mL/Kg de NaCl 7,5%; SH 3% (n=7), tratamento com 10 mL/Kg de NaCl 3%.

Nota 2: BL, momento antes da indução do choque hemorrágico; H60, término do período de choque hemorrágico; T30, 30 minutos após o início da reposição volêmica.

Nota 3: valores apresentados como média ± erro padrão da média. * p < 0,05 vs BL; † p < 0,05 vs H60; ‡ p < 0,05 vs CT; ¶ p < 0,05 vs RL.

Tabela 3. Valores de hemoglobina, hematócrito, sódio plasmático e glicemia.

	GRUPOS	BL	H60	T30
Hemoglobina (g/dL)	CT	13,4 ± 0,4	13,46 ± 0,22	12,5 ± 0,3
	RL	12,5 ± 0,5	9,23 ± 0,27*‡	10,7 ± 0,3*†‡
	SH 7,5%	12,9 ± 0,2	8,83 ± 0,31*‡	11,1 ± 0,2*†‡
	SH 3%	12,4 ± 0,4	8,31 ± 0,19*‡	10,3 ± 0,4*†‡
Hematócrito	CT	40,2 ± 1,4	40,40 ± 0,68	37,8 ± 1,1
	RL	37,5 ± 1,4	27,57 ± 0,90*‡	32,4 ± 1,1*†‡
	SH 7,5%	38,5 ± 0,6	26,29 ± 0,92*‡	33,4 ± 0,8*†‡
	SH 3%	37,1 ± 1,2	25,00 ± 0,53*‡	31,1 ± 1,3*†‡
Sódio (mEq/L)	CT	142,2 ± 0,2	142,20 ± 0,86	143,0 ± 1,1
	RL	142,7 ± 1,5	139,86 ± 1,40	141,8 ± 1,3
	SH 7,5%	143,7 ± 1,0	142,29 ± 0,71*‡	149,3 ± 0,6*†‡¶
	SH 3%	142,3 ± 0,8	140,14 ± 0,70*‡	147,4 ± 1,1*†‡¶
Glicose (mg/dL)	CT	131,8 ± 3,41	127,6 ± 4,0	121,6 ± 4,0
	RL	132,3 ± 6,97	271,0 ± 21,8*‡	174,5 ± 17,9*†‡
	SH 7,5%	122,0 ± 5,26	262,0 ± 19,8*‡	174,4 ± 20,1*†‡
	SH 3%	114,7 ± 2,03	260,5 ± 20,1*‡	156,1 ± 15,2*†‡

Nota 1: CT (n=5), grupo-controle, sem indução de choque ou tratamento; RL (n=7), tratamento com 33 mL/Kg de Ringer lactato; SH 7,5% (n=7), tratamento com 4 mL/Kg de NaCl 7,5%; SH 3% (n=7), tratamento com 10 mL/Kg de NaCl 3%.

Nota 2: BL, momento antes da indução do choque hemorrágico; H60, término do período de choque hemorrágico; T30, 30 minutos após o início da reposição volêmica.

Nota 3: valores apresentados como media ± erro padrão da média. * p < 0,05 vs BL; † p < 0,05 vs H60; ‡ p < 0,05 vs CT; ¶ p < 0,05 vs RL.

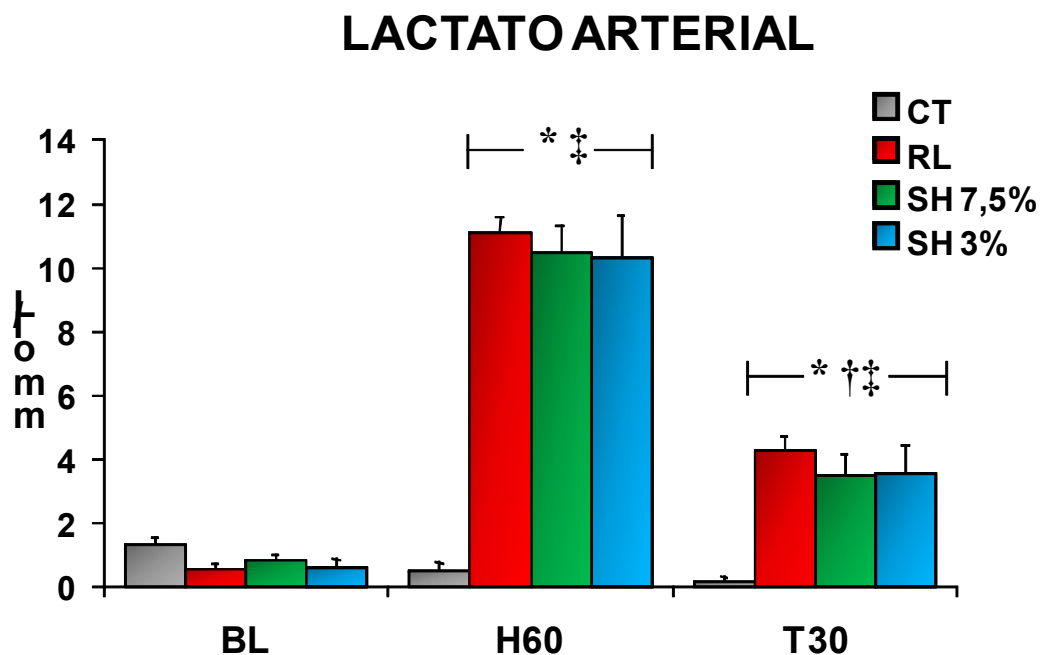


Figura 2. Valores de lactato arterial (média \pm EPM), dos animais do grupo controle (CT, n=5, sem indução de choque ou reposição volêmica) e dos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, conforme o tratamento utilizado: RL (n=7, tratamento com solução de Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg), SH 7,5% (n=7, tratamento com 4 mL/Kg de solução de NaCl 7,5%) e SH 3% (n=7, tratamento com 10 mL/Kg de solução de NaCl 3%); BL= medida basal; H60= término do período de choque hemorrágico; T30 =30 minutos após o início da reposição volêmica.

* p < 0,05 vs BL; ‡ p < 0,05 vs CT; † p < 0,05 vs H60.

OSMOLARIDADE PLASMÁTICA

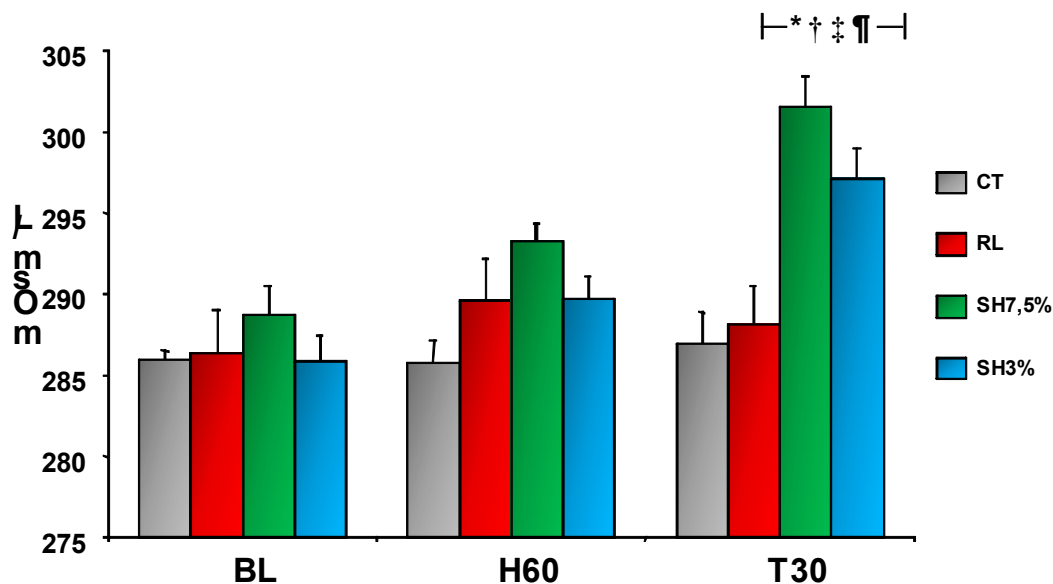


Figura 3. Osmolaridade plasmática (média \pm EPM), dos animais do grupo controle (CT, n=5, sem indução de choque ou reposição volêmica) e dos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, conforme o tratamento utilizado: RL (n=7, tratamento com solução de Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg), SH 7,5% (n=7, tratamento com 4 mL/Kg de solução de NaCl 7,5%) e SH 3% (n=7, tratamento com 10 mL/Kg de solução de NaCl 3%); BL= medida basal; H60= término do período de choque hemorrágico; T30 =30 minutos após o início da reposição volêmica.

* p < 0,05 vs BL; † p < 0,05 vs H60; ‡ p < 0,05 vs CT; ¶ p < 0,05 vs RL.

4.4 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

4.4.1 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Tanto os animais tratados com a solução salina hipertônica a 7,5% quanto os que receberam a solução a 3%, apresentaram níveis séricos semelhantes dos mediadores inflamatórios avaliados quatro horas após a indução do choque hemorrágico. Não houve diferença estatisticamente significativa entre estes grupos e o grupo-controle, em relação aos valores de TNF- α (Figura 4) e IL-6 (Figura 5). Entretanto, os animais tratados com Ringer lactato apresentaram níveis significativamente maiores de TNF- α quando comparados aos grupos-controle, HS 7,5% e HS 3% (Figura 4), e níveis significativamente elevados de IL-6, em comparação ao grupo-controle (Figura 5).

4.4.2 ANÁLISE DE LESÃO PULMONAR

Os animais tratados com as duas concentrações de solução salina hipertônica apresentaram índices significativamente menores de lesão pulmonar quatro horas após a indução do choque hemorrágico, quando comparados aos animais tratados com Ringer lactato (Figura 6). Não foram observadas diferenças entre os grupos HS 7,5%, HS 3% e o grupo-controle.

Os animais tratados com Ringer lactato apresentaram índices elevados principalmente de congestão pulmonar e infiltrado intersticial de células inflamatórias (Tabela 4).

4.4.3 ANÁLISE DE LESÃO INTESTINAL

A solução salina hipertônica, nas duas concentrações estudadas, exerceu efeito protetor sobre o processo inflamatório intestinal decorrente do choque hemorrágico. O índice de lesão intestinal foi significativamente maior nos animais tratados com Ringer lactato quando comparados aos grupos controle, HS 7,5% e HS 3% (Figura 7). Os animais do grupo RL apresentaram níveis acentuados de lesão na membrana basal, edema, congestão e de infiltrado inflamatório (Tabela 5). Não foram observadas diferenças entre os grupos tratados com as soluções hipertônicas e o grupo-controle.

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE TNF- α

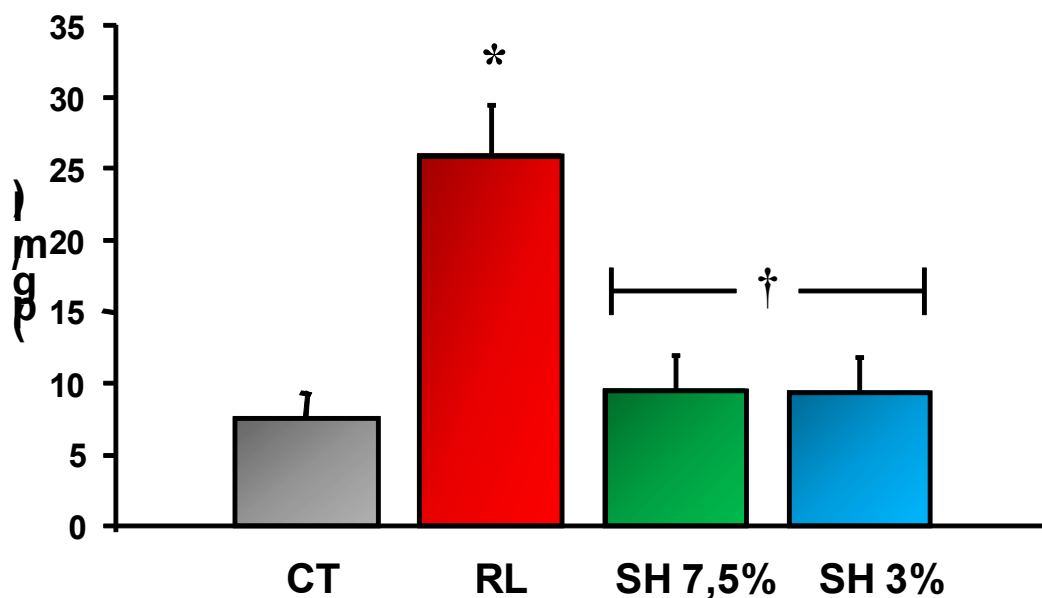


Figura 4. Concentração plasmática de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), quatro horas após a indução do choque hemorrágico (dados apresentados como média \pm EPM), em animais do grupo-controle (CT, n=5, sem indução do choque ou reposição volêmica) e nos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, conforme o tratamento utilizado: **RL** (n=7, tratamento com solução de Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg), **SH 7,5%** (n=7, tratamento com 4 mL/Kg de solução de NaCl 7,5%) e **SH 3%** (n=7, tratamento com 10 mL/Kg de solução de NaCl 3%).

* $p < 0,05$ vs CT; † $p < 0,05$ vs RL.

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE IL-6

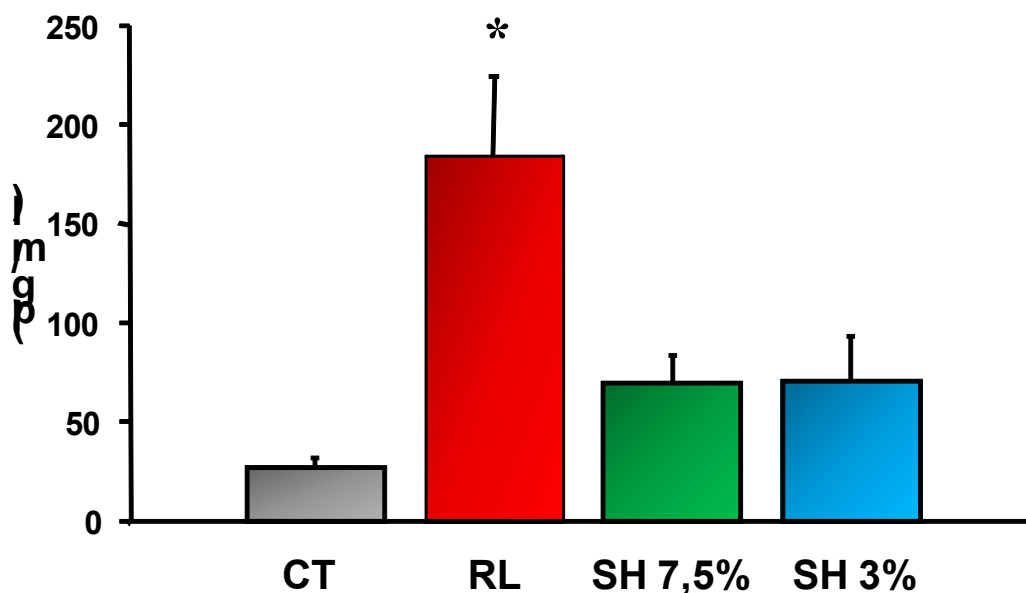


Figura 5. Concentração plasmática de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), quatro horas após a indução do choque hemorrágico (dados apresentados como média \pm EPM), em animais do grupo-controle (CT, n=5, sem indução do choque ou reposição volêmica) e nos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, conforme o tratamento utilizado: **RL** (n=7, tratamento com solução de Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg), **SH 7,5%** (n=7, tratamento com 4 mL/Kg de solução de NaCl 7,5%) e **SH 3%** (n=7, tratamento com 10 mL/Kg de solução de NaCl 3%).

* $p < 0,05$ vs CT.

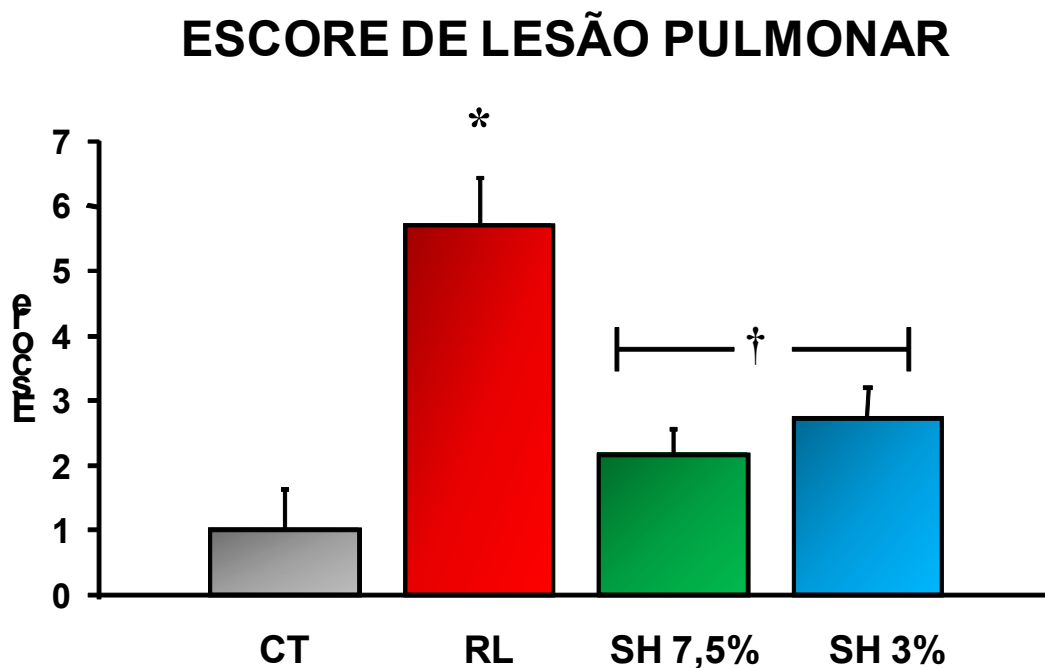


Figura 6. Escore total de lesão pulmonar (média \pm EPM), quatro horas após a indução do choque hemorrágico, em animais do grupo-controle (CT, n=5, sem indução do choque ou reposição volêmica) e nos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, conforme o tratamento utilizado: RL (n=7, tratamento com solução de Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg), SH 7,5% (n=7, tratamento com 4 mL/Kg de solução de NaCl 7,5%) e SH 3% (n=7, tratamento com 10 mL/Kg de solução de NaCl 3%).

* $p < 0,05$ vs CT; † $p < 0,05$ vs RL.

Tabela 4. Média dos parâmetros individuais do escore de lesão pulmonar por grupo, quatro horas após a indução do choque hemorrágico.

Parâmetro	CT	RL	SH 7.5%	SH 3%
Edema	0,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Congestão	0,2 ± 0,2	1,5 ± 0,2*	0,8 ± 0,2 [†]	0,5 ± 0,2 [†]
Infiltrado de neutrófilos	0,2 ± 0,2	2 ± 0,3*	0,5 ± 0,2 [†]	1 [†]
Infiltrado de linfócitos	0,2 ± 0,2	0,7 ± 0,2*	0 [†]	0,2 ± 0,2 [†]
Total	1 ± 0,6	5,7 ± 0,7*	2,1 ± 0,4[†]	2,7 ± 0,5[†]

Nota 1: **CT** (n=5), grupo-controle, sem indução de choque ou tratamento; **RL** (n=7), tratamento com 33 mL/Kg de Ringer lactato; **SH 7,5%** (n=7), tratamento com 4 mL/Kg de NaCl 7,5%; **SH 3%** (n=7), tratamento com 10 mL/Kg de NaCl 3%.

Nota 2: Dados apresentados como média ± EPM. * p < 0,05 vs CT; † p < 0,05 vs RL.

ESCORE DE LESÃO INTESTINAL

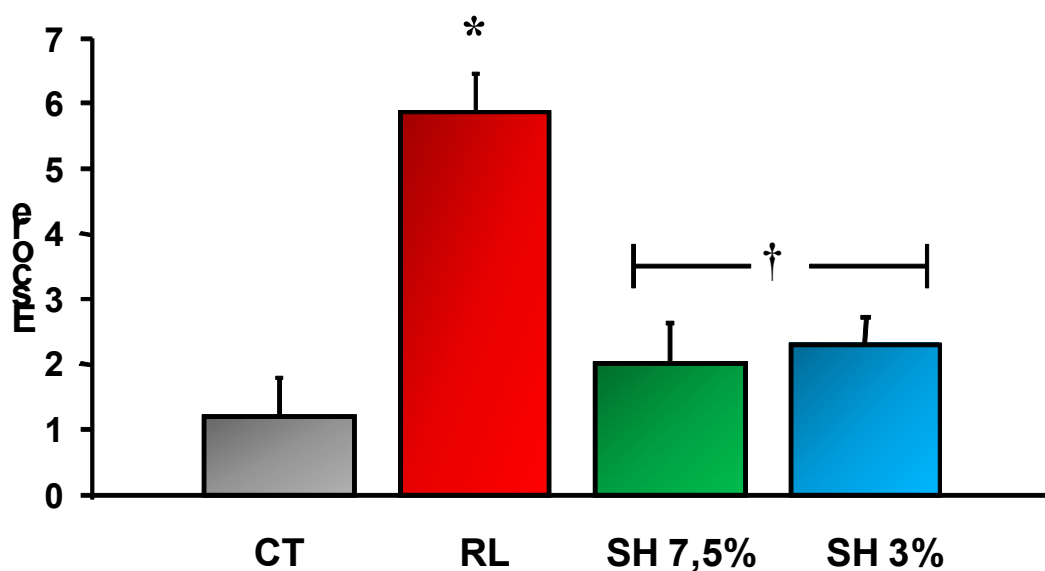


Figura 5. Escore total de lesão intestinal (média ± EPM), quatro horas após a indução do choque hemorrágico, em animais do grupo-controle (CT, n=5, sem indução do choque ou reposição volêmica) e nos animais submetidos ao choque hemorrágico por 60 minutos, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, conforme o tratamento utilizado: RL (n=7, tratamento com solução de Ringer lactato na dose de 33 mL/Kg), SH 7,5% (n=7, tratamento com 4 mL/Kg de solução de NaCl 7,5%) e SH 3% (n=7, tratamento com 10 mL/Kg de solução de NaCl 3%).

* $p < 0,05$ vs CT; † $p < 0,05$ vs RL.

Tabela 5. Média dos parâmetros individuais do escore de lesão intestinal por grupo, quatro horas após a indução do choque hemorrágico.

Parâmetro	CT	RL	SH 7.5%	SH 3%
Lesão memb. basal	0	0,4 ± 0,2*	0 [†]	0 [†]
Edema	0,2 ± 0,2	1,8 ± 0,2*	0,5 ± 0,2 [†]	0,5 ± 0,2 [†]
Congestão	0,6 ± 0,2	1,4 ± 0,2*	0,7 ± 0,2 [†]	1 [†]
Infiltrado inflamatório	0,4 ± 0,2	2,1 ± 0,2*	0,7 ± 0,2 [†]	0,7 ± 0,2 [†]
Total	1,2 ± 0,6	5,8 ± 0,6*	2 ± 0,6[†]	2,2 ± 0,4[†]

Nota 1: **CT** (n=5), grupo-controle, sem indução de choque ou tratamento; **RL** (n=7), tratamento com 33 mL/Kg de Ringer lactato; **SH 7,5%** (n=7), tratamento com 4 mL/Kg de NaCl 7,5%; **SH 3%** (n=7), tratamento com 10 mL/Kg de NaCl 3%.

Nota 2: (memb) = membrana.

Nota 3: Dados apresentados como média ± EPM. * p < 0,05 vs CT; † p < 0,05 vs RL.

5. DISCUSSÃO

Após o reconhecimento de que o choque hemorrágico é capaz de produzir alterações graves no sistema imunológico, tanto pela hipoperfusão tecidual, quanto pela reperfusão que se segue ao seu tratamento, diversos estudos concentram-se, agora, em elucidar os mecanismos pelos quais estas alterações ocorrem e em buscar modalidades terapêuticas capazes de tratar não só as consequências imediatas do choque, mas também as tardias, representadas pela resposta inflamatória.

Neste estudo, por meio de um modelo de choque hemorrágico controlado em animais, pôde-se observar a efetividade da solução salina hipertônica a 3% na correção das alterações hemodinâmicas e na atenuação da resposta inflamatória, após um episódio de choque hemorrágico grave.

A solução salina hipertônica, nesta concentração, tem sido estudada principalmente em pacientes portadores de traumatismos cerebrais, sendo demonstrados bons resultados com o seu uso. FISHER et al. (1992), analisando pacientes pediátricos, vítimas de traumatismos cranioencefálicos, observaram uma redução significativa nos níveis de pressão intracraniana, duas horas após o tratamento com uma única dose de solução hipertônica a 3%. Em outro estudo, envolvendo pacientes com edema cerebral, a solução salina hipertônica a 3% foi infundida de maneira contínua, até que os níveis séricos de sódio atingissem valores entre 145 e 155 mmol/L. Os autores

observaram uma redução na pressão intracraniana em pacientes com edema cerebral pós-operatório ou provocado por traumatismo cranioencefálico, correlacionando esta melhora com o aumento nos níveis de sódio sérico (QURESHI et al., 1998). Neste mesmo estudo, pacientes com edema cerebral de origem não traumática não se beneficiaram da terapia com a solução hipertônica.

Dos seis estudos disponíveis sobre o tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica a 3%, dois deles analisam os efeitos da reposição volêmica na restauração da pressão arterial média e também nos índices de pressão intracraniana. Em um modelo de choque hemorrágico controlado em cães, GUNNAR et al. (1986) demonstraram que, por um lado, o tratamento do choque com solução salina 0,9% resultava em um aumento significativo na pressão intracraniana, mesmo na ausência de lesão traumática cerebral; por outro lado, o tratamento com a solução salina hipertônica a 3% resultava na manutenção dos níveis basais de pressão intracraniana, sendo obtidos efeitos hemodinâmicos semelhantes entre as duas soluções. Resultados semelhantes foram obtidos por PINTO et al. (2006), utilizando, entretanto, um modelo de choque hemorrágico controlado e traumatismo cerebral.

Em outro estudo, cães foram submetidos ao choque hemorrágico e randomizados em dois grupos: um dos grupos, com tratamento através da reinfusão rápida do volume total de sangue retirado para indução do choque hemorrágico; outro, com tratamento com a infusão de solução hipertônica a

3% na dose correspondente a 25% do volume sangrado, com a adição de dextran 40 a 10%. Resultados hemodinâmicos semelhantes foram obtidos nos dois grupos, observando-se, após o tratamento, restabelecimento aos níveis basais nos valores de pressão arterial média, débito cardíaco e fluxo na artéria mesentérica superior (POLI DE FIGUEIREDO et al., 2005).

Vale ressaltar que, em todos os estudos, em que se comparou a reposição volêmica a baixo volume com a solução salina hipertônica a 3% e o tratamento com soluções isotônicas em grandes volumes, os resultados obtidos em termos de restauração dos padrões hemodinâmicos foram semelhantes entre os grupos. Em um único estudo, em que foram comparados os tratamentos com solução salina a 0,9%, solução salina hipertônica a 3% e solução hipertônica a 7,5% (as duas últimas com a adição de dextran 70 a 6%), em um modelo de choque hemorrágico não controlado em suínos, os resultados hemodinâmicos obtidos com a solução isotônica foram significativamente inferiores em relação aos outros grupos (WATTERS et al., 2006). Em contrapartida, neste trabalho, os autores optaram pela infusão de um volume fixo das soluções (250 mL, correspondendo a uma média de 8 mL/Kg), independentemente da concentração de sódio nestas. Como a perda volêmica no grupo que recebeu a solução salina 0,9% foi estimada em uma média de 25 mL/Kg, o volume de solução isotônica utilizado para a reposição volêmica foi muito aquém do que o preconizado nestas situações, prejudicando, desta forma, a comparação entre os grupos.

No presente estudo, as três soluções utilizadas foram efetivas na restauração da pressão arterial média. Diferenças obtidas nos 15 minutos iniciais do tratamento não foram consideradas, uma vez que devido às diferenças na velocidade de infusão dos fluidos em cada grupo, a reposição volêmica completa só foi obtida em todos os animais após 20 minutos na fase de tratamento, não sendo, portanto, coerente uma comparação antes deste período.

Optou-se pela utilização de doses diferentes de cada solução, com o intuito de permitir que a mesma carga de sódio fosse infundida em cada animal. Ainda que, nesta pesquisa, a dose da solução salina hipertônica a 3% tenha sido maior que a dose rotineiramente empregada da solução com concentração maior de cloreto de sódio (10 mL/Kg e 4 mL/Kg, respectivamente), o volume infundido de solução hipertônica a 3% correspondeu a apenas 30%, aproximadamente, do volume utilizado de Ringer lactato. Nos poucos estudos disponíveis sobre a reposição volêmica com esta solução, não há uma padronização em relação à dose a ser utilizada. Entretanto, em três destes trabalhos, o volume final infundido de solução salina hipertônica a 3% esteve próximo de 8 mL/Kg, sendo que, apenas no estudo de PINTO et al. (2006), o volume da solução foi dependente do peso dos animais. Nos outros dois estudos, já citados anteriormente, a dose da solução hipertônica a 3% foi escolhida com base no volume de sangramento ou como um volume fixo independentemente do peso ou outras variáveis (POLI DE FIGUIREDO et al., 2005; WATTERS et al., 2006).

No único estudo a avaliar o tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica a 3% em pacientes politraumatizados, doses de 4 mL/Kg desta solução foram infundidas a cada hora, durante as três primeiras horas de diversos procedimentos cirúrgicos necessários para o controle da hemorragia, de acordo com as necessidades hemodinâmicas dos pacientes. Adicionalmente, eram infundidos volumes complementares de solução isotônica, mais uma vez conforme o necessário, nos intervalos entre uma dose e outra. Os autores observaram que o tratamento com a solução salina hipertônica nesta concentração, em doses entre 8 mL/Kg e 12 mL/Kg (volume final), foi eficaz no restabelecimento da pressão arterial sistólica, correção da acidose e déficit urinário neste grupo de pacientes (HOLCROFT et al., 1987). Constataram ainda que, em comparação ao grupo tratado apenas com Ringer lactato, o volume final de cristaloides infundidos de maneira complementar, para manutenção de padrões hemodinâmicos adequados nas primeiras 24 horas após o início do tratamento, foi reduzido pela metade nos pacientes os quais receberam a solução salina hipertônica.

No presente estudo, o volume infundido de soluções nos três grupos terapêuticos, proporcionou não só a correção da pressão arterial média em níveis adequados, mas também melhora metabólica significativa de maneira semelhante entre os grupos, tomando-se, como exemplo, a redução em mais da metade nos valores de lactato arterial 30 minutos após o início da reposição volêmica, em comparação aos valores apresentados ao término do período de choque hemorrágico.

Apesar de, em muitos trabalhos, com modelos semelhantes a este proposto neste estudo, os autores optarem pela reinfusão de todo o sangue retirado para indução do choque hemorrágico, nesta pesquisa, optou-se pela reinfusão de, apenas, metade deste volume. Observou-se, para tanto, em um estudo-piloto, que este volume de sangue era suficiente para a manutenção dos níveis de hemoglobina em torno de 10 g/dL, sendo este um valor adequado para esta classe de pacientes críticos, segundo alguns autores.

Outra observação importante, do ponto de vista metabólico, diz respeito às alterações encontradas na osmolaridade plasmática. Neste estudo, o tratamento com as duas concentrações de solução salina hipertônica, promoveu um aumento significativo nos níveis de osmolaridade, observando-se elevações acima de 10 mOsm/L em relação aos valores basais, sendo que os animais tratados com a solução de Ringer lactato, mantiveram após o tratamento valores próximos aos encontrados no início do experimento. Da mesma forma, observou-se um aumento nos níveis de sódio plasmático após a reposição volêmica, apenas nos animais tratados com as soluções hipertônicas.

A geração de um ambiente extracelular hipertônico tem sido apontada como um dos efeitos benéficos da infusão de soluções de tonicidade elevada (SHUKLA et al., 2004). Estudos experimentais relacionam o ambiente hipertônico com alterações importantes nas funções de células do sistema imunológico, principalmente células T, células endoteliais,

neutrófilos e macrófagos, células intimamente envolvidas na resposta inflamatória após o choque hemorrágico grave (COIMBRA et al., 1996; ANGLE et al., 1998a; RHEE et al., 2000). Esta resposta imunológica inclui a síntese de mediadores inflamatórios por diversas células e tecidos, a expressão de moléculas de adesão facilitando as interações entre neutrófilos e células endoteliais e alterações importantes no controle da permeabilidade vascular por parte do endotélio, podendo culminar em lesão orgânica e, conseqüentemente, disfunção de múltiplos órgãos.

Aumento de citocinas após o choque hemorrágico ou trauma são demonstrados em estudos experimentais e clínicos. Dentre as diversas citocinas envolvidas na resposta inflamatória, optou-se pela análise do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e da interleucina (IL) – 6, pela importância que estas possuem na fase precoce da resposta imunológica. O TNF- α é liberado precocemente após o trauma, sendo produzido principalmente por monócitos, macrófagos e células T. Apesar de apresentar uma meia vida curta, é capaz de provocar alterações metabólicas e hemodinâmicas acentuadas, além de ativar outras citocinas e promover a expressão ou a liberação de moléculas de adesão, prostaglandina E₂, fator ativador plaquetário e glicocorticóides (FINK, 2005). A IL-6, além de ser produzida por monócitos, macrófagos e células T, pode ser também liberada por células endoteliais e epiteliais do intestino, sendo incluídos, entre seus diversos efeitos, a indução de febre, promoção da maturação e diferenciação de célula B, estimulação da proliferação e diferenciação de célula T e

indução da síntese de proteínas da fase aguda por hepatócitos (LIN et al., 2000).

Em um estudo envolvendo 28 pacientes politraumatizados, 20 pacientes admitidos em choque hemorrágico devido a aneurisma de aorta roto, e 20 pacientes submetidos a correções eletivas de aneurismas de aorta abdominal, ROUMEN et al. (1993) correlacionaram aumentos precoces nos níveis de TNF- α , IL-6 e IL-1 β com o desenvolvimento de síndrome do desconforto respiratório agudo e com índices elevados de mortalidade. Em um estudo experimental de choque hemorrágico em camundongos, ABRAHAM et al. (1995) demonstraram que a utilização de anticorpos monoclonais anti TNF- α , uma hora após o choque hemorrágico, estava associada a uma diminuição nos índices de lesão pulmonar.

SHIELDS et al. (2003), por meio do clampeamento durante 30 minutos da aorta infrarrenal de ratos, revelaram que o tratamento com a solução salina hipertônica a 7,5% promovia atenuação da lesão pulmonar induzida pela isquemia e reperfusão, sendo observados níveis significativamente menores de TNF- α e IL-6 nestes animais, quando comparados a animais que receberam solução salina a 0,9% em grandes volumes. Resultados semelhantes em relação a estes mediadores inflamatórios foram obtidos por GURFINKEL et al. (2003), em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos.

No trabalho atual, o tratamento com a solução salina hipertônica a 3% promoveu uma redução na produção de TNF- α e IL-6, sendo os resultados

obtidos neste grupo semelhantes ao grupo-controle e ao grupo tratado com a concentração convencional da solução salina hipertônica. De maneira semelhante ao encontrado nos estudos experimentais e clínicos citados anteriormente, os animais que apresentaram índices menores de mediadores inflamatórios, apresentaram também atenuação da lesão pulmonar desencadeada pelo choque hemorrágico.

Apesar da influência dos mediadores inflamatórios no desenvolvimento da lesão pulmonar, ressalta-se que a fisiopatologia desta lesão é complexa e multifatorial, envolvendo, além das já citadas alterações endoteliais, alterações importantes na microcirculação. Neste sentido, a hipoperfusão do território esplâncnico e, conseqüentemente, alterações inflamatórias na mucosa intestinal decorrentes do evento isquêmico, são apontadas em estudos recentes como fatores agravantes no desenvolvimento não só da lesão pulmonar, mas também na origem da disfunção de múltiplos órgãos. Em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos, associado à indução de sepse abdominal obtida por ligadura e punção de ceco, NAKAGAWA et al. (2006) demonstraram alterações significativas na microcirculação esplâncnica, observando-se um aumento na interação de neutrófilos e células endoteliais através de microscopia intravital, diretamente no território mesentérico. No mesmo estudo, os autores notaram, ainda, um aumento na expressão da molécula ICAM-1 e da população de neutrófilos no tecido pulmonar.

Períodos curtos de isquemia intestinal, na vigência de choque hemorrágico grave, são suficientes para provocar alterações estruturais no

órgão, levando ao comprometimento de suas funções protetoras. Em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos, CHANG et al. (2005) perceberam alterações significativas na histologia da mucosa intestinal, aumento da permeabilidade intestinal e índices elevados de morte celular por necrose e apoptose no íleo terminal, com maior incidência três horas após o choque e ressuscitação pela reinfusão do sangue retirado.

A perda da barreira intestinal facilita a passagem de produtos citotóxicos e de bactérias para a circulação sanguínea e linfática, sendo a maneira como o pulmão é atingido por este processo motivo de questionamento por parte de alguns autores. MAGNOTTI et al. (1998) demonstraram, em ratos, uma redução na permeabilidade pulmonar e nos níveis de mieloperoxidase após o choque hemorrágico, mediante ligadura do ducto linfático mesentérico antes da indução do choque. Em outro trabalho do mesmo grupo, os autores observaram uma redução na ativação de neutrófilos em animais submetidos ao choque hemorrágico e à ligadura do ducto linfático mesentérico, sugerindo que os fatores citotóxicos derivados do intestino, e não bactérias, atingem órgãos distantes exclusivamente pela circulação linfática (ADAMS et al., 2002). Para tanto, em um modelo de choque hemorrágico controlado em ratos, YADA-LANGUI et al. (2000) demonstraram um grande índice de culturas positivas em linfonodos mesentéricos de animais tratados com Ringer lactato, caracterizando, desta forma, o processo de translocação bacteriana. Ainda, neste trabalho, a presença da translocação bacteriana esteve associada a piores índices de lesão pulmonar, caracterizada por estudo histopatológico e por contagem de

neutrófilos no lavado broncoalveolar, sendo que a infusão de solução salina hipertônica esteve relacionada a menores índices de translocação bacteriana e lesão pulmonar. Em outro estudo experimental em ratos, HIRSH et al. (2002) comprovaram a translocação bacteriana após o choque hemorrágico, por meio de culturas positivas obtidas do sangue portal, fígado, baço e linfonodos mesentéricos. Neste trabalho, mais uma vez o tratamento com a solução salina hipertônica foi capaz de diminuir os índices de translocação bacteriana.

De qualquer forma, há uma relação bem estabelecida entre a perda da barreira protetora intestinal e o desenvolvimento de lesão pulmonar, sendo que o tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica parece promover um efeito protetor nos dois órgãos. Em uma série de estudos experimentais, animais tratados com a solução salina hipertônica apresentaram diminuição significativa nos índices histopatológicos de lesão intestinal, redução na incidência de apoptose de células do intestino delgado, diminuição da permeabilidade intestinal e melhora do fluxo macro e microcirculatório mesentérico (MURAO et al., 2003; ATTUWAYBI et al., 2004; CRUZ JUNIOR et al., 2006b; GONZALEZ et al., 2006; ZAKARIA et al., 2006).

Em um modelo de choque hemorrágico controlado, SHI et al. (2002) avaliaram a relação entre lesão intestinal e lesão pulmonar em ratos, comparando os resultados em animais tratados com solução salina hipertônica a 7,5% e Ringer lactato, 3h e 24h após a reposição volêmica. Os

autores observaram que, nos dois momentos experimentais, os animais tratados com Ringer lactato, e não os tratados com solução salina hipertônica apresentaram aumento da permeabilidade pulmonar e intestinal, aumento da atividade de neutrófilos no tecido pulmonar, maior índice de translocação bacteriana em linfonodos mesentéricos e maior quantidade de lesão em vilosidades intestinais. Por regressão linear, os autores demonstraram haver um grande nível de correlação entre a magnitude da lesão intestinal e as alterações na permeabilidade pulmonar e nos níveis de mieloperoxidase, independentemente do tipo de fluido utilizado na reposição volêmica.

Em um modelo de choque hemorrágico seguido pela infusão intratraqueal de endotoxinas bacterianas, POWERS et al. (2005) provaram que animais tratados com solução salina hipertônica, em comparação à reposição com Ringer lactato, apresentavam ao exame histopatológico intestinal redução de edema, necrose de vilosidades e infiltração de neutrófilos na submucosa, observando-se simultaneamente diminuição no acúmulo de neutrófilos no lavado bronco-alveolar destes animais e diminuição da ativação de macrófagos alveolares. Como nos outros estudos citados anteriormente, os autores sugerem que o efeito protetor da solução salina hipertônica no intestino delgado dos animais deve-se à capacidade desta solução em melhorar o fluxo microcirculatório mesentérico, amenizando, desta forma, a isquemia na mucosa intestinal pela manutenção de uma perfusão adequada.

A gravidade da lesão pulmonar desencadeada pelo choque hemorrágico, associada a períodos prolongados de internações em unidades de terapia intensiva e índices elevados de mortalidade, justifica o grande número de estudos existentes sobre o assunto. A redução na capacidade de oxigenação faz com que as consequências da lesão pulmonar não sejam apenas locais, mas principalmente sistêmicas.

Evidências clínicas e experimentais demonstram a importância do acúmulo de neutrófilos no desenvolvimento da lesão pulmonar, seja por meio de avaliação histológica, seja pela análise do lavado broncoalveolar. A liberação de espécies reativas de oxigênio e de enzimas proteolíticas por parte dos neutrófilos, dentre outros mecanismos de lesão celular, é capaz de promover alterações estruturais ou mesmo destruição da membrana alveolar (WARE et al., 2000). Neste sentido, a solução salina hipertônica apresenta efeitos benéficos na atenuação da lesão pulmonar não só por proteger o território esplâncnico da isquemia, mas também por suas ações diretas nas células do sistema imunológico.

RIZOLI et al. (1998), em modelo de choque hemorrágico em ratos e infusão intratraqueal de endotoxias bacterianas, demonstraram que o tratamento com a solução salina hipertônica promovia diminuição na expressão das moléculas de adesão L-selectina, CD 11b e ICAM-1. No mesmo estudo, os animais apresentavam ainda redução da permeabilidade pulmonar, diminuição na contagem de neutrófilos no lavado broncoalveolar,

diminuição dos valores de mieloperoxidase e de lesão pulmonar, determinada por análise histopatológica.

Outros estudos demonstraram achados semelhantes, como os publicados por ANGLE et al. em 1998. Em dois trabalhos, os autores demonstraram, em camundongos, que o tratamento do choque hemorrágico com solução salina hipertônica exercia efeitos protetores no pulmão, pela supressão da atividade oxidativa dos neutrófilos e pela diminuição do sequestro destes no tecido pulmonar, além de inibir a expressão de L-selectina.

Novamente, por meio de um modelo de choque hemorrágico e pela infusão de endotoxinas bacterianas intratraqueal, POWERS et al. (2003) demonstraram, após o tratamento com a solução salina hipertônica, uma redução na produção de TNF- α por macrófagos alveolares isolados do lavado broncoalveolar e, concomitantemente, um aumento na produção de IL-10 pelos mesmos macrófagos, sendo este um mediador com propriedades anti-inflamatórias. Para demonstrar a importância do equilíbrio entre fatores pró e anti-inflamatórios, os autores bloquearam a ação da IL-10 mediante administração intratraqueal de anticorpo anti IL-10, observando, no lavado broncoalveolar, uma contagem superior de neutrófilos em comparação a animais nos quais o anticorpo não fora utilizado.

Neste estudo, pôde-se observar que a solução salina hipertônica a 3% exerceu efeitos protetores tanto no intestino delgado quanto nos pulmões de ratos submetidos ao choque hemorrágico. A diminuição do

infiltrado inflamatório nestes órgãos foi semelhante à observada no grupo de animais tratados com a solução salina hipertônica a 7,5%, sendo estes resultados comparáveis com os obtidos na literatura. Analisando os dados desta pesquisa que ora se apresenta, observou-se que a solução salina hipertônica a 3% apresenta propriedades anti-inflamatórias semelhantes à solução de concentração maior. No entanto, apesar de algumas evidências, pôde-se apenas sugerir que os mecanismos de ação sejam os mesmos, já que até o momento nenhum outro estudo analisou os potenciais efeitos imunomoduladores desta solução. Novos trabalhos, envolvendo, por exemplo, análise da microcirculação pela microscopia intravital, expressão de moléculas de adesão, dosagem de outros mediadores inflamatórios e o uso de um modelo de dupla agressão poderiam auxiliar na elucidação desta questão.

Apesar destas limitações, e lembrando que o desenvolvimento da lesão pulmonar e da disfunção de múltiplos órgãos é multifatorial, notou-se, nestes resultados que a solução de cloreto de sódio, na concentração de 3%, conseguiu gerar um ambiente extracelular de tonicidade elevada, promoveu diminuição nos níveis séricos de mediadores inflamatórios e foi efetiva em preservar a perfusão do território mesentérico, resultando em atenuação da lesão intestinal secundária à isquemia e, provavelmente, preservando a barreira protetora intestinal, sendo o mesmo fato observado com a solução salina hipertônica a 7,5%.

Os resultados obtidos com estas soluções foram superiores, em termos de atenuação da resposta inflamatória, aos obtidos com a solução de Ringer lactato e, mais uma vez, comparáveis aos existentes na literatura.

Algumas ressalvas devem ser feitas em relação ao modelo experimental escolhido para a execução deste trabalho. O modelo de choque hemorrágico controlado, apesar de produzir um estado de hipoperfusão tecidual importante, está longe de reproduzir com exatidão o que ocorre na prática clínica com os pacientes politraumatizados. A apresentação destes pacientes é de grande variabilidade, sofrendo a influência da quantidade e da gravidade de lesões, do tempo de atendimento e do transporte pré-hospitalares, da exposição a diferentes temperaturas, da realização de procedimentos invasivos com durações variáveis, dentre outros muitos fatores. A reposição volêmica, da mesma forma, tende a ser um processo dinâmico e contínuo, e não limitado pelo tempo. Portanto, nenhum modelo é capaz de reunir, em um mesmo experimento, todas as variáveis presentes na prática clínica. Contudo, o modelo de choque hemorrágico controlado é bastante utilizado na avaliação da resposta inflamatória, por permitir a uniformidade do choque nos diversos grupos a serem estudados e, com isso, possibilitar uma avaliação adequada das intervenções propostas (LOMAS-NIERA et al., 2005; TSUKAMOTO e PAPE, 2009).

O curto período de observação utilizado neste experimento, permitiu apenas observar as alterações agudas decorrentes da resposta inflamatória. A escolha deste período foi baseada em modelos utilizados em muitos dos

trabalhos citados ao longo do texto, sendo fundamental a complementação dos resultados obtidos aqui com estudos visando, por exemplo, à mortalidade em períodos maiores.

Apesar de todas estas limitações, pôde-se sugerir, por meio deste estudo, que o tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica a 3%, além de ser uma alternativa ao tratamento com a solução de Ringer lactato, pode ser uma modalidade de reposição volêmica benéfica para pacientes politraumatizados, principalmente em vítimas de traumatismo cranioencefálico.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que:

- 1- o tratamento do choque hemorrágico com a solução salina hipertônica a 3% promove estabilização da pressão arterial média e melhorias metabólicas em ratos;
- 2- a reposição volêmica com a solução salina hipertônica a 3% resulta em atenuação da resposta inflamatória decorrente do choque hemorrágico, diminuindo os níveis séricos de TNF- α e IL-6 e exercendo efeitos benéficos em relação ao desenvolvimento de lesão inflamatória nos pulmões e no intestino delgado de ratos;
- 3- o tratamento com a solução salina hipertônica a 3%, em relação à resposta inflamatória, produziu efeitos semelhantes aos obtidos com a solução salina hipertônica a 7,5%, sendo ambos superiores ao tratamento com a solução de Ringer lactato.

7. ANEXOS

Anexo A. Dados individuais de pressão arterial média (mmHg).

CT

	1	2	3	4	5	Média	DPM	EPM
BL	112	118	110	103	110	110,6	5,4	2,4
H10	112	118	110	103	110	110,6	5,4	2,4
H15	117	120	106	105	103	110,2	7,7	3,5
H30	120	118	110	104	102	110,8	8,1	3,6
H45	116	115	110	110	96	109,4	8,0	3,6
H60	120	110	96	107	94	105,4	10,7	4,8
T5	118	110	100	103	95	105,2	9,0	4,0
T10	116	108	100	105	94	104,6	8,3	3,7
T15	117	108	100	105	95	105,0	8,3	3,7
T30	116	112	105	103	92	105,6	9,2	4,1
T45	116	118	112	103	94	108,6	10,0	4,5
T60	120	112	112	102	94	108,0	10,1	4,5

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	107	90	102	95	103	100	98	99,3	5,6	2,1
H10	35	35	36	35	36	35	35	35,3	0,5	0,2
H15	40	35	38	37	36	37	36	37,0	1,6	0,6
H30	35	36	40	36	37	36	35	36,4	1,7	0,6
H45	39	36	37	37	37	37	36	37,0	1,0	0,4
H60	37	35	36	35	35	36	36	35,7	0,8	0,3
T5	83	75	53	80	64	55	50	65,7	13,6	5,2
T10	86	82	60	87	72	63	53	71,9	13,6	5,1
T15	70	78	65	90	78	65	60	72,3	10,3	3,9
T30	106	100	75	100	100	85	70	90,9	14,1	5,3
T45	105	98	75	100	95	90	72	90,7	12,6	4,8
T60	100	90	79	98	95	80	80	88,9	9,1	3,5

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	106	104	120	108	108	94	107	106,7	7,6	2,9
H10	35	36	35	35	36	35	35	35,3	0,5	0,2
H15	39	40	38	37	34	36	36	37,1	2,0	0,8
H30	36	40	40	37	35	34	36	36,9	2,3	0,9
H45	38	38	38	40	36	35	38	37,6	1,6	0,6
H60	35	35	37	36	36	35	35	35,6	0,8	0,3
T5	78	90	59	68	74	60	60	69,9	11,6	4,4
T10	102	120	110	108	107	93	102	106,0	8,3	3,2
T15	104	109	100	106	107	92	105	103,3	5,7	2,2
T30	100	110	100	112	104	92	105	103,3	6,8	2,6
T45	95	109	104	109	90	92	100	99,9	7,8	3,0

T60	95	107	100	106	90	96	100	99,1	6,1	2,3
------------	----	-----	-----	-----	----	----	-----	------	-----	-----

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	104	104	106	105	100	103	124	106,6	7,9	3,0
H10	35	36	35	35	36	35	35	35,3	0,5	0,2
H15	40	39	39	35	39	36	36	37,7	2,0	0,7
H30	52	36	36	35	36	35	34	37,7	6,3	2,4
H45	39	38	38	36	35	36	36	36,9	1,5	0,6
H60	35	35	37	38	35	36	37	36,1	1,2	0,5
T5	65	80	70	59	66	64	63	66,7	6,7	2,5
T10	81	90	70	110	86	69	74	82,9	14,4	5,4
T15	110	112	100	118	103	106	100	107,0	6,7	2,5
T30	102	100	112	104	98	103	94	101,9	5,6	2,1
T45	95	98	105	105	96	102	96	99,6	4,4	1,6
T60	92	96	110	104	94	99	96	98,7	6,3	2,4

Anexo B. Valores individuais de pH.**CT**

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL	7,47	7,47	7,48	7,48	7,47	7,48	0,0	0,0
H60	7,45	7,42	7,45	7,47	7,40	7,44	0,02	0,0
T30	7,43	7,44	7,48	7,35	7,40	7,42	0,05	0,0

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	7,52	7,42	7,46	7,40	7,46	7,48	7,48	7,5	0,0	0,0
H60	7,35	7,36	7,33	7,37	7,31	7,42	7,35	7,4	0,0	0,0
T30	7,40	7,31	7,30	7,25	7,33	7,35	7,36	7,3	0,0	0,0

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	7,50	7,45	7,50	7,41	7,50	7,44	7,47	7,47	0,0	0,0
H60	7,44	7,37	7,44	7,31	7,37	7,28	7,35	7,37	0,1	0,0
T30	7,39	7,37	7,34	7,25	7,43	7,29	7,34	7,34	0,1	0,0

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	7,40	7,45	7,51	7,49	7,41	7,47	7,48	7,5	0,0	0,0
H60	7,37	7,46	7,35	7,44	7,30	7,41	7,30	7,4	0,1	0,0
T30	7,26	7,38	7,34	7,37	7,23	7,38	7,31	7,3	0,1	0,0

Anexo C. Valores individuais de bicarbonato (mEq/L).

CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL	33,2	35,5	32,5	36,4	34,8	34,5	1,6	0,7
H60	36,8	38,2	31,6	32,2	38	35,3	3,2	1,4
T30	35,4	38,9	31,9	35,2	34,2	35,1	2,5	1,1

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	26	36,3	32,7	35,8	33,1	34,4	31,4	32,8	3,5	1,3
H60	16,6	19,9	15,6	25	15,6	19,2	19,8	18,8	3,3	1,3
T30	24	32,7	20,6	32,9	26,4	26,3	32,3	27,9	4,8	1,8

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	34	33,7	34,4	36,7	33,6	34,2	33,4	34,3	1,1	0,4
H60	15,7	19,7	21,4	11,5	17,1	17,6	18,1	17,3	3,2	1,2
T30	27,9	25,3	27,5	22,7	26,3	25,5	21,3	25,2	2,4	0,9

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	38,6	32,6	28,2	34,1	31,8	35,3	33	33,4	3,2	1,2
H60	19,3	22,3	15,2	24,9	14,5	17,7	10,9	17,8	4,8	1,8
T30	23,4	33,3	25,6	28,9	23,6	30,4	22,3	26,8	4,1	1,6

Anexo D. Valores individuais de déficit de base (mEq/L).**CT**

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL	9,5	11,7	9	12,7	11	10,7	1,5	0,7
H60	12,6	13,5	7,5	8,3	13	10,9	2,8	1,3
T30	10,9	14,6	8,2	9,4	9,1	10,4	2,5	1,1

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	2,9	11,7	8,8	10,8	9,2	10,7	7,7	8,8	2,9	1,1
H60	-9,2	-5,7	-10,5	-0,4	-10,8	-5,5	-5,9	-6,9	3,7	1,4
T30	-1,1	6,3	-5,9	5,5	0,3	0,5	6,6	1,7	4,6	1,7

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	10,7	9,5	11,1	11,9	10,2	9,9	9,6	10,4	0,9	0,3
H60	-8,5	-5,7	-2,9	-14,9	-8,4	-9,3	-7,7	-8,2	3,7	1,4
T30	2,8	-0,2	1,5	-4,7	1,8	-1,2	-4,7	-0,67	3,1	1,2

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	13,7	8,4	5,1	10,6	7	11,5	9,3	9,4	2,9	1,1
H60	-6,1	-1,6	-10,5	0,6	-12,1	-7	-15,7	-7,5	5,8	2,2
T30	-3,9	8	-0,3	3,6	-4,1	5,1	-4,1	0,6	5,0	1,9

Anexo E. Valores individuais de lactato (mmol/L).

CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL		1,3	1,8	1,5	0,8	1,3	0,5	0,2
H60	0	0,6	0,8	1,2	0	0,5	0,6	0,3
T30	0	0,2	0,7	0	0	0,1	0,4	0,2

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	0,6	0,7		0	0		1,6	0,6	0,4	0,1
H60	11	10,9		9	13	10,8	11,8	11,1	1,3	0,5
T30	5,1	3,4		3,4	5,5	5,5	2,8	4,3	1,2	0,5

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	0,6	0,3		1,1	0,8	1	1,4	0,8	0,5	0,2
H60	10,2	8,8	7,4	12,7	10,5	13,4	10,3	10,4	2,3	0,9
T30	3,4	1,4	2,4	6,6	2,4	5	3,4	3,5	1,8	0,7

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	0,1	0	0,1	0,1	1,7	1	1,3	0,6	0,7	0,3
H60	9,5	6,5	10,2	5,1	12,7	12,6	15,4	10,3	3,6	1,4
T30	5,6	1,1		0,1	5,3	3,5	5,7	3,6	2,4	0,9

Anexo F. Valores individuais de PaO₂ (mmHg).

CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL	86,6	81,4	85,7	81,3	69,1	80,8	7,0	3,1
H60	81,5	73,8	79,5	82,8	78,8	79,2	3,5	1,5
T30	79,5	83	101,5	69	80,7	82,7	11,8	5,3

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	64	54,3	70,9	70	72,2	78	76,3	69,4	8,1	3,0
H60	102	121,4	110,6	124,6	122,7	119,5	106,6	115,3	8,9	3,3
T30	72,6	60,2	103,2	76,5	103,3	77,3	84,1	82,5	15,9	6,0

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	65,6	70,1	94,3	68,5	81,7	58,2	66,6	72,1	12,0	4,5
H60	110,3	97,5	110,2	135,3	110,6	111,8	118	113,3	11,4	4,3
T30	89,9	90,5	109	109,7	101,8	92,5	103,1	99,5	8,5	3,2

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	64,9	63,3	93,6	89,4	60,7	74	71	73,8	12,9	4,9
H60	129,4	121,7	125,3	100,3	125,7	117,6	117,6	119,7	9,6	3,6
T30	94,7	92,1	112,1	82,3	86,4	93,3	92,7	93,4	9,4	3,5

Anexo G. Valores individuais de PaCO₂ (mmHg).

CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL	44,9	47,9	42,6	48,6	46,7	46,1	2,4	1,1
H60	52,7	58,1	44,9	44,1	61,1	52,1	7,6	3,4
T30	52,8	57	42,2	63,4	55,6	54,2	7,8	3,5

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	31,8	55	45	57,4	45,9	46	42	46,2	8,5	3,2
H60	30,1	34,6	29,7	42,6	30,3	29,4	35,2	33,1	4,8	1,8
T30	39,1	64,4	41,5	73,8	49	47,1	56,8	53,1	12,6	4,8

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	42,8	47,9	43,5	56,5	42,4	49,2	45,3	46,8	5,0	1,9
H60	22,8	33,7	31,2	22,2	29,3	36,9	32,7	29,8	5,5	2,1
T30	45,6	43,6	50,8	51,3	39,3	52,3	39,3	46,0	5,6	2,1

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	60,7	46,6	34,6	44,1	49,9	48,2	43,7	46,8	7,9	3,0
H60	32,9	30,9	27,2	36,2	28,9	27,3	22,1	29,4	4,5	1,7
T30	51,8	55,7	46,8	48,9	55	51	43,3	50,4	4,4	1,7

Anexo H. Valores individuais de glicose (mg/dL).
CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL	122	134	127	134	142	131,8	7,6	3,4
H60	130	126	125	141	116	127,6	9,1	4,1
T30	126	131	120	124	107	121,6	9,1	4,1

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	102	155	127	129	120	149	144	132,3	18,4	7,0
H60	291	324	287	178	274	209	334	271,0	57,6	21,8
T30	225	131	184	145	168	122	247	174,6	47,4	17,9

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	123	107	122	120	135	104	143	122	13,9	5,3
H60	201	196	298	300	227	288	324	262	52,5	19,9
T30	136	104	197	252	142	162	228	174,4	53,3	20,1

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	104	111	117	119	117	117	118	114,7	5,4	2,0
H60	287	170	256	220	304	259	328	260,6	53,2	20,1
T30	163	119	181	97	192	135	206	156,1	40,3	15,2

Anexo I. Valores individuais de hemoglobina (g/dL).
CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL		13,9	14,5	12,6	12,5	13,3	1,0	0,4
H60	13,9	14,1	13,1	13,2	13	13,4	0,5	0,2
T30	13,2	13,3	13	11,7	11,6	12,5	0,8	0,4

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	12,1	12,8	10	12,9	12,2	13,9	13,5	12,5	1,3	0,5
H60	9	9,5	8,8	10	9	8,1	10,2	9,2	0,7	0,3
T30	11,3	11,2	9,3	11,5	10,6	9,5	11,9	10,8	1,0	0,4

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	13,2	12,4	13,8	13,1	13,2	12,5	12,4	12,9	0,5	0,2
H60	8,3	9,4	9,1	7,7	9	8,2	10,1	8,8	0,8	0,3
T30	11,3	10,5	10,6	11,6	10	11,4	12,2	11,0	0,8	0,3

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	12,8	13,2	10,1	12,3	12,3	13,3	12,7	12,4	1,1	0,4
H60	8,8	8,3	8	8	7,5	8,8	8,8	8,3	0,5	0,2
T30	11,1	10,5	11,9	8,7	8,8	11	10,3	10,3	1,2	0,5

Anexo J. Valores individuais de sódio (mEq/L).

CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL		142	142	143	142	142,2	0,5	0,2
H60	141	140	143	142	145	142,2	1,9	0,9
T30	142	140	142	144	147	143	2,6	1,2

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	150	137	141	143	143	145	140	142,7	4,1	1,6
H60	143	137	140	144	143	134	138	139,9	3,7	1,4
T30	146	138	143	145	142	143	136	141,9	3,6	1,4

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	141	146	142	148	141	146	142	143,7	2,9	1,1
H60	145	143	142	144	142	140	140	142,2	1,9	0,7
T30	151	147	150	151	148	150	148	149,3	1,6	0,6

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	142	140	140	146	144	141	143	142,3	2,2	0,8
H60	138	140	140	144	140	139	140	140,1	1,9	0,7
T30	147	147	144	153	145	146	150	147,4	3,1	1,2

Anexo K. Valores individuais de osmolaridade (mmOsm/L).

CT

	1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
BL		285	285	287	287	286	1,2	0,5
H60	284	282	287	286	290	285,8	3,0	1,4
T30	286	282	285	289	293	287	4,2	1,9

RL

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	299	277	284	287	287		284	286,3	7,2	2,7
H60	296	288	291	292	295	275	290	289,6	7,0	2,6
T30	298	279	290	292	289	287	282	288,1	6,3	2,4

SH 7,5%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	284	292	286	296	284	293	286	288,7	4,9	1,8
H60	295	291	295	298	291	291	292	293,2	2,8	1,0
T30	303	293	304	309	298	302	302	301,5	5,0	1,9

SH 3%

	1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
BL	285	281	282	293	289	284	287	285,9	4,2	1,6
H60	287	285	289	295	292	287	293	289,7	3,7	1,4
T30	297	294	292	303	295	294	305	297,1	4,9	1,9

Anexo L. Valores individuais de TNF- α (pg/mL).**CT**

1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
6,9	3,1	13,4	5,7	8,6	7,54	3,8	1,7

RL

1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
33,5	16,3	34	34,7	21,8		15	25,9	9,3	3,5

SH 7,5%

1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
	10,7	2,8	19,1	3,5	5,1	15,2	9,4	6,7	2,5

SH 3%

1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
	1,4	11,8	4,2	8,1	10,13	20,13	9,3	6,5	2,5

Anexo M. Valores individuais de IL-6.**CT**

1	2	3	4	5	média	DPM	EPM
23,4	13,5	39,7	30,7		26,8	11,1	5,0

RL

1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
170	67,8	127,5	195,3	380,3	165,2		184,3	105,7	40,0

SH 7,5%

1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
115,6	60,3	57,4	21,9		93,3	70	69,7	36,0	13,6

SH 3%

1	2	3	4	5	6	7	média	DPM	EPM
183,4	33,8	25	61,1	49,7		73,2	71,0	57,7	21,8

Anexo N. Dados individuais referentes à análise histológica pulmonar.**CT**

	A1	A2	A3	A4	A5	MÉDIA	DPM	EPM
EDEMA	1	0	1	0	0	0,4	0,5	0,2
CONG	1	0	0	0	0	0,2	0,4	0,2
LINFOC	0	0	1		0	0,25	0,5	0,2
NEUTR	1	0	0	0	0	0,2	0,4	0,2
TOTAL	3	0	2	0	0	1	1,4	0,6

RL

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	MEDIA	DPM	EPM
EDEMA	2	1	2	2	1	1	1	1,4	0,5	0,2
CONG	2	2	1	2	2	1	1	1,5	0,5	0,2
LINFOC	1	1	1	1	1	0	0	0,7	0,4	0,2
NEUTR	2	2	3	2	2	2	1	2	0,5	0,3
TOTAL	7	6	7	7	6	4	3	5,7	1,6	0,7

SH 7,5%

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	MEDIA	DPM	EPM
EDEMA	1	1	1	1	0	1	0	0,7	0,4	0,2
CONG	1	1	0	1	1	1	1	0,8	0,3	0,2
LINFOC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
NEUTR	1	1	1	1	0	0	0	0,5	0,5	0,2
TOTAL	3	3	2	3	1	2	1	2,1	0,9	0,4

SH 3%

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	MEDIA	DPM	EPM
EDEMA	1	1	1	1	0	1	1	0,8	0,3	0,2
CONG	1	0	1	0	0	1	1	0,5	0,5	0,2
LINFOC	0	0	0	0	0	1	1	0,2	0,4	0,2
NEUTR	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,0
TOTAL	3	2	3	2	1	4	4	2,7	1,1	0,5

Anexo O. Dados individuais referentes à análise histológica intestinal.
CT

	A1	A2	A3	A4	A5	MÉDIA	DPM	EPM
LES. MB	0	0	0	0	0	0	0	0,0
EDEMA	1	0	0	0	0	0,2	0,4	0,2
CONG.	1	1	0	0	1	0,6	0,5	0,2
INFILTR.	1	0	0	0	1	0,4	0,5	0,2
TOTAL	3	1	0	0	2	1,2	1,3	0,6

RL

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	MEDIA	DPM	EPM
LES. MB	1	1	0	0	0	1	0	0,4	0,5	0,2
EDEMA	2	2	2	2	2	2	1	1,8	0,3	0,2
CONG.	2	1	1	2	1	2	1	1,4	0,5	0,2
INFILTR.	3	2	2	2	2	2	2	2,1	0,3	0,2
TOTAL	8	6	5	6	5	7	4	5,8	1,3	0,6

SH 7,5%

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	MEDIA	DPM	EPM
LES. MB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
EDEMA	1	1	1	1	0	0	0	0,5	0,5	0,2
CONG.	1	1	1	1	1	0	0	0,7	0,4	0,2
INFILTR.	1	1	1	1	1	0	0	0,7	0,4	0,2
TOTAL	3	3	3	3	2	0	0	2	1,4	0,6

SH 3%

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	MEDIA	DPM	EPM
LES. MB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
EDEMA	1	1	1	0	1	0	0	0,5	0,5	0,2
CONG.	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,0
INFILTR.	1	1	1	1	1	0	0	0,7	0,4	0,2
TOTAL	3	3	3	2	3	1	1	2,2	0,9	0,4

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM E, JESMOK G, TUDER R, ALLBEE J, CHANG YH. Contribution of tumor necrosis factor-alpha to pulmonary cytokine expression and lung injury after hemorrhage and resuscitation. *Crit Care Med.* 1995; 23:1319-26.

ADAMS CA, HAUSER CJ, ADAMS JM, FEKETE Z, XU DZ, SAMBOL JT, DEITCH EA. Trauma-hemorrhage-induced neutrophil priming is prevented by mesenteric lymph duct ligation. *Shock.* 2002; 18:513-7.

ANGLE N, HOYT DB, COIMBRA R, LIU F, HERDON-REMELIUS C, LOOMIS W, JUNGER WG. Hypertonic saline resuscitation diminishes lung injury by suppressing neutrophil activation after hemorrhagic shock. *Shock.* 1998a; 9:164-70.

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

ATTUWAYBI B, KOZAR RA, GATES KS, MOORE-OLUFEMI S, SATO N, WEISBRODT NW, MOORE FA. Hypertonic saline prevents inflammation, injury, and impaired intestinal transit after gut ischemia/reperfusion by inducing heme oxygenase 1 enzyme. *J Trauma.* 2004; 56:749-58.

AYUS JC, OLIVERO JJ, FROMMER JP. Rapid correction of severe hyponatremia with intravenous hypertonic saline solution. *Am J Med.* 1982; 72:43-8.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema de informações sobre mortalidade – SIM. Óbitos por causas externas – Brasil. Brasília, 2006.

Disponível em:

<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defctohtm.exe?sim/cnv/extuf.def>

BULGER EM, CUSCHIERI J, WARNER K, MAIER RV. Hypertonic resuscitation modulates the inflammatory response in patients with traumatic hemorrhagic shock. *Ann Surg.* 2007; 245:635-41, 2007.

CERQUEIRA NF, HUSSNI CA, YOSHIDA WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras.* 2005; 20:336-43.

CHANG JX, CHEN S, MA LP, JIANG LY, CHEN JW, CHANG RM, WEN LQ, WU W, JIANG ZP, HUANG ZT. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock. *World J Gastroenterol.* 2005; 11:5485-91.

CHOI PT, YIP G, QUINONEZ LG, COOK DJ. Crystalloids vs. colloids in fluid resuscitation: a systematic review. *Crit Care Med.* 1999 ;27:200-10.

CHOILEAIN NN, REDMOND HP. Cell response to surgery. *Arch Surg.* 2006; 141: 1132-40.

COIMBRA R, JUNGER WG, LIU FC, LOOMIS WH, HOYT DB. Hypertonic/hyperoncotic fluids reverse prostaglandin E2 (PGE2)-induced T-cell suppression. *Shock.* 1995; 4:45-9.

COIMBRA R, JUNGER WG, HOYT DB, LIU FC, LOOMIS WH, EVERS MF. Hypertonic saline resuscitation restores hemorrhage-induced immunosuppression by decreasing prostaglandin E2 and interleukin-4 production. *J Surg Res.* 1996; 64:203-9.

COIMBRA R, HOYT DB, JUNGER WG, ANGLE N, WOLF P, LOOMIS W, EVERS MF. Hypertonic saline resuscitation decreases susceptibility to sepsis after hemorrhagic shock. *J Trauma.* 1997; 42:602-6.

COIMBRA R, LOOMIS W, MELBOSTAD H, TOBAR M, PORCIDES RD, LALL R, HOLBROOK T, HOYT DB. Role of hypertonic saline and pentoxifylline on neutrophil activation and tumor necrosis factor-alpha synthesis: a novel resuscitation strategy. *J Trauma.* 2005; 59:257-64.

COTTON BA, GUY JS, MORRIS JA, ABUMRAD NN. The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock.* 2006; 26:115-21.

CRUZ JUNIOR RJ, ROCHA-E-SILVA M. Função endotelial no choque e na isquemia esplâncnica. *Arq Bras Cir Dig.* 2006, 19:72-6.

CRUZ RJ, YADA-LANGUI MM, DE FIGUEIREDO LF, SINOSAKI S, ROCHA E SILVA M. The synergistic effects of pentoxifylline on systemic and regional perfusion after hemorrhage and hypertonic resuscitation. *Anesth Analg.* 2006a; 102:1518-24.

CRUZ JUNIOR RJ, YADA-LANGUI MM, GARRIDO AG, FIGUEIREDO LF, ROCHA E SILVA M. Early effects of 7.5% hypertonic saline solution on splanchnic perfusion after hemorrhagic shock. *Acta Cir Bras.* 2006b; 21:106-12.

DE FELIPPE J JR, TIMONER J, VELASCO IT, LOPES OU, ROCHA-E-SILVA M JR. Treatment of refractory hypovolaemic shock by 7.5% sodium chloride injections. *Lancet*. 1980; 8: 1002-4.

DEMETRIADES D, KIMBRELL B, SALIM A, VELMAHOS G, RHEE P, PRESTON C, GRUZINSKI G. Trauma deaths in a mature urban trauma system: is “trimodal” distribution a valid concept? *J Am Coll Surg*. 2005; 201: 343–348.

DEREE J, DE CAMPOS T, SHENVI E, LOOMIS WH, HOYT DB, COIMBRA R. Hypertonic saline and pentoxifylline attenuates gut injury after hemorrhagic shock: the kinder, gentler resuscitation. *J Trauma*. 2007; 62:818-27.

FAIST E, ANGELE M, WICHMANN M. The immune response. In: Moore EE, Feliciano DV, Mattox KL. *Trauma*. 5th edition. New York: Mc Graw-Hill, 2004, 1383-96.

FINK MP. O papel das citocinas como mediadoras da resposta inflamatória. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox, KL. *Sabiston Tratado de Cirurgia*. 17^a edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, 45-66.

FISHER B, THOMAS D, PETERSON B. Hypertonic saline lowers raised intracranial pressure in children after head trauma. *J Neurosurg Anesthesiol*. 1992; 4: 4-10.

GARRIDO A DEL P, CRUZ JUNIOR RJ, POLI DE FIGUEIREDO LF, ROCHA E SILVA M. Small volume of hypertonic saline as the initial fluid replacement in experimental hypodynamic sepsis. *Crit Care*. 2006; 10:R62, 2006.

GIANNOUDIS PV. Current concepts of the inflammatory response after major trauma: an update. *Injury, Int J Care Injured*. 2003; 34: 397-404.

GONZALEZ EA, KOZAR RA, SULIBURK JW, WEISBRODT NW, MERCER DW, MOORE FA. Conventional dose hypertonic saline provides optimal gut protection and limits remote organ injury after gut ischemia reperfusion. *J Trauma*. 2006; 61:66-73.

GUNNAR WP, MERLOTTI GJ, BARRETT J, JONASSON O. Resuscitation from hemorrhagic shock. Alterations of the intracranial pressure after normal saline, 3% saline and dextran-40. *Ann Surg*. 1986; 204:686-92.

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

HARBRECHT BG, ALARCON LH, PEITZMAN AB. Management of Shock. In: Moore EE, Feliciano DV, Mattox KL. *Trauma*. 5th edition. New York: Mc Graw-Hill, 2004, 201-25.

HIETBRINK F, KOENDERMAN L, RIJKERS, LEENEN LPH. Trauma: the role of the innate immune system. *World J Emerg Surg*. 2006; 1:15.

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

HIRSH M, DYUGOVSKAYA L, BASHENKO Y, KRAUSZ MM. Reduced rate of bacterial translocation and improved variables of natural killer cell and T-cell activity in rats surviving controlled hemorrhagic shock and treated with hypertonic saline. *Crit Care Med*. 2002;30:861-7.

HOLCROFT JW, VASSAR MJ, TURNER JE, DERLET RW, KRAMER GC. 3% NaCl and 7.5% NaCl/dextran 70 in the resuscitation of severely injured patients. *Ann Surg.* 1987; 206:279-88.

HUANG SJ, CHANG L, HAN YY, LEE YC, TU YK. Efficacy and safety of hypertonic saline solutions in the treatment of severe head injury. *Surg Neurol.* 2006; 65: 539-46.

KEEL M, TRENTZ O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury, Int J Care Injured.* 2005; 36: 691-709.

KHANNA S, DAVIS D, PETERSON B, FISHER B, TUNG H, O'QUIGLEY J, DEUTSCH R. Use of hypertonic saline in the treatment of severe refractory posttraumatic intracranial hypertension in pediatric traumatic brain injury. *Crit Care Med.* 2000; 28: 1144-51.

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.

LIN E, CALVANO SE, LOWRY SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery.* 2000; 127: 117-26.

LOMAS-NIERA JL, PERL M, CHUNG CS, AYALA A. Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock.* 2005; 24 Suppl 1:33-9.

MACHADO MC, COELHO AM, PONTIERI V, SAMPIETRE SN, MOLAN NA, SORIANO F, MATHEUS AS, PATZINA RA, CUNHA JE, VELASCO IT. Local and systemic effects of hypertonic solution (NaCl 7.5%) in experimental acute pancreatitis. *Pancreas.* 2006; 32:80-6.

MAGNOTTI LJ, UPPERMAN JS, XU DZ, LU Q, DEITCH EA. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock. *Ann Surg.* 1998; 228:518-27.

MARIK PE, CORWIN HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crit Care Med.* 2008 ;36:2667-74.

MATTOX KL, MANINGAS PA, MOORE EE, MATEER JR, MARX JA, APRAHAMIAN C, BURCH JM, PEPE PE. Prehospital hypertonic saline/dextran infusion for post-traumatic hypotension. The U.S.A. Multicenter Trial. *Ann Surg.* 1991; 213:482-91.

MAZZONI MC, BORGSTROM P, ARFORS KE, INTAGLIETTA M. Dynamic fluid redistribution in hyperosmotic resuscitation of hypovolemic hemorrhage. *Am J Physiol.* 1988; 255: H629-37.

MOORE FA, MCKINLEY BA, MOORE EE. The next generation in shock resuscitation. *Lancet.* 2004a; 363:1988-96.

MOORE FA, MOORE EE. Postinjury multiple organ failure. In: Moore EE, Feliciano DV, Mattox KL. *Trauma.* 5th edition. New York: Mc Graw-Hill, 2004b, 1397-1424.

MOORE FA, MCKINLEY BA, MOORE EE, NATHENS AB, WEST M, SHAPIRO MB, BANKEY P, FREEMAN B, HARBRECHT BG, JOHNSON JL, MINEI JP, MAIER RV. Inflammation and the Host Response to Injury, a large-scale collaborative project: patient-oriented research core--standard operating procedures for clinical care. III. Guidelines for shock resuscitation. *J Trauma* 2006; 61:82-9.

MURAO Y, HATA M, OHNISHI K, OKUCHI K, NAKAJIMA Y, HIASA Y, JUNGER WG, HOYT DB, OHNISHI T. Hypertonic saline resuscitation reduces apoptosis and tissue damage of the small intestine in a mouse model of hemorrhagic shock. *Shock*. 2003; 20:23-8.

NAKAGAWA NK, NOGUEIRA RA, CORREIA CJ, SHIWA SR, COSTA CRUZ JW, POLI DE FIGUEIREDO LF, ROCHA E SILVA M, SANNOMIYA P. Leukocyte-endothelium interactions after hemorrhagic shock/reperfusion and cecal ligation/puncture: an intravital microscopic study in rat mesentery. *Shock*. 2006; 26:180-6.

NOLAN J. Fluid resuscitation for the trauma patient. *Resuscitation*. 2001 ;48:57-69.

PASCUAL JL, KHWAJA KA, CHAUDHURY P, CHRISTOU NV. Hypertonic saline and the microcirculation. *J Trauma*. 2003a; 54:S133-40.

PASCUAL JL, KHWAJA KA, FERRI LE, GIANNIAS B, EVANS DC, RAZEK T, MICHEL RP, CHRISTOU NV Hypertonic saline resuscitation attenuates neutrophil lung sequestration and transmigration by diminishing leukocyte-endothelial interactions in a two-hit model of hemorrhagic shock and infection. *J Trauma*. 2003b; 54:121-30.

PINTO FC, CAPONE-NETO A, PRIST R, E SILVA MR, POLI-DE-FIGUEIREDO LF. Volume replacement with lactated Ringer's or 3% hypertonic saline solution during combined experimental hemorrhagic shock and traumatic brain injury. *J Trauma*. 2006; 60:758-63.

POLI DE FIGUEIREDO LF, CRUZ RJ, SILVA E, YADA-LANGUI MM, ROCHA E SILVA M. Sustained gastric mucosal acidosis after hemorrhage in

spite of rapid hemodynamic restoration with blood or hypertonic/hyperoncotic solution. *J Invest Surg.* 2005; 18:257-64.

POWERS KA, WOO J, KHADAROO RG, PAPIA G, KAPUS A, ROTSTEIN OD. Hypertonic resuscitation of hemorrhagic shock upregulates the anti-inflammatory response by alveolar macrophages. *Surgery.* 2003; 134:312-8.

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.

QURESHI AI, SUAREZ JI, BHARDWAJ A, MIRSKI M, SCHNITZER MS, HANLEY DF, ULATOWSKI JA. Use of hypertonic (3%) saline/acetate infusion in the treatment of cerebral edema: Effect on intracranial pressure and lateral displacement of the brain. *Crit Care Med.* 1998; 26:440-6.

RHEE P, BURRIS D, KAUFMANN C, PIKOULIS M, AUSTIN B, LING G, HARVIEL D, WAXMAN K. Lactated Ringer's solution resuscitation causes neutrophil activation after hemorrhagic shock. *J Trauma.* 1998; 44: 313-19.

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; 28:74-8.

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

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

ROCHA-E-SILVA M, NEGRAES GA, SOARES AM, PONTIERI V, LOPPNOW L. Hypertonic resuscitation from severe hemorrhagic shock: patterns of regional circulation. *Circ Shock.* 1986;19:165-75.

ROCHA E SILVA M, POLI DE FIGUEIREDO LF. Small volume hypertonic resuscitation of circulatory shock. *Clinics.* 2005; 60: 159-172.

ROUMEN RM, HENDRIKS T, VAN DER VEN-JONGEKRIJG J, NIEUWENHUIJZEN GA, SAUERWEIN RW, VAN DER MEER JW, GORIS RJ. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg.* 1993; 218:769-76.

SHI HP, DEITCH EA, DA XU Z, LU Q, HAUSER CJ. Hypertonic saline improves intestinal mucosa barrier function and lung injury after trauma-hemorrhagic shock. *Shock.* 2002; 17:496-501.

SHIELDS CJ, WINTER DC, MANNING BJ, WANG JH, KIRWAN WO, REDMOND HP. Hypertonic saline infusion for pulmonary injury due to ischemia-reperfusion. *Arch Surg.* 2003; 138:9-14.

SHUKLA A, HASHIGUCHI N, CHEN Y, COIMBRA R, HOYT DB, JUNGER WG. Osmotic regulation of cell function and possible clinical applications. *Shock.* 2004; 21:391-400.

SILVA LE, COIMBRA R, RASSLAN S. Reposição com sangue e hemoderivados. In: ROCHA E SILVA M. Choque. São Paulo: Atheneu; 1996, 203-24.

STAHEL PF, SMITH WR, MOORE EE. Role of biological modifiers regulating the immune response after trauma. *Injury, Int J Care Injured*. 2007; 38: 1409-22.

STAUDENMAYER KL, MAIER RV, JELACIC S, BULGER EM. Hypertonic saline modulates innate immunity in a model of systemic inflammation. *Shock*. 2005; 23:459-63.

TAWADROUS ZS, DELUDE RL, FINK MP. Resuscitation from hemorrhagic shock with Ringer's ethyl pyruvate solution improves survival and ameliorates intestinal mucosal hyperpermeability in rats. *Shock*. 2002; 17:473-7.

TRUNKEY DD. *Trauma*. *Sci Am*. 1983; 249: 28-35.

TSUKAMOTO T, PAPE HC. Animal models for trauma research: what are the options? *Shock*. 2009; 31:3-10.

TYAGI R, DONALDSON K, LOFTUS CM, JALLO J. Hypertonic saline: a clinical review. *Neurosurg Rev*. 2007; 30:277-89.

VAID SU, SHAH A, MICHELL MW, RAFIE AD, DEYO DJ, PROUGH DS, KRAMER GC. Normotensive and hypotensive closed-loop resuscitation using 3.0% NaCl to treat multiple hemorrhages in sheep. *Crit Care Med*. 2006; 34:1185-92.

VASSAR MJ, FISCHER RP, O'BRIEN PE, BACHULIS BL, CHAMBERS JA, HOYT DB, HOLCROFT JW. A multicenter trial for resuscitation of injured patients with 7.5% sodium chloride. The effect of added dextran 70. *The*

Multicenter Group for the Study of Hypertonic Saline in Trauma Patients. Arch Surg. 1993; 128:1003-11.

VELASCO IT, PONTIERI V, ROCHA E SILVA M, LOPES OU. Hyperosmotic NaCl and severe hemorrhagic shock. Am J Physiol. 1980; 239:H664-73.

WADE CE, KRAMER GC, GRADY JJ, FABIAN TC, YOUNES RN. Efficacy of hypertonic 7.5% saline and 6% dextran-70 in treating trauma: a meta-analysis of controlled clinical studies. Surgery. 1997; 122:609-16.

WARE LB, MATTHAY MA. The acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2000; 342:1334-49.

WATTERS JM, TIEU BH, DIFFERDING JA, MULLER PJ, SCHREIBER MA. A single bolus of 3% hypertonic saline with 6% dextran provides optimal initial resuscitation after uncontrolled hemorrhagic shock. J Trauma. 2006; 61:75-81.

YADA-LANGUI MM, ANJOS-VALOTTA EA, SANNOMIYA P, ROCHA E SILVA M, COIMBRA R. Resuscitation affects microcirculatory polymorphonuclear leukocyte behavior after hemorrhagic shock: role of hypertonic saline and pentoxifylline. Exp Biol Med. 2004; 229:684-93.

YADA-LANGUI MM, COIMBRA R, LANCELLOTTI C, MIMICA I, GARCIA C, CORREIA N, ROCHA E SILVA M. Hypertonic saline and pentoxifylline prevent lung injury and bacterial translocation after hemorrhagic shock. Shock. 2000; 14:594-8.

ZAKARIA EL R, TSAKADZE NL, GARRISON RN. Hypertonic saline resuscitation improves intestinal microcirculation in a rat model of hemorrhagic shock. Surgery. 2006; 140:579-87.

ZIAI WC, TOUNG TJ, BHARDWAJ A. Hypertonic saline: first-line therapy for cerebral edema? J Neurol Sci. 2007; 261:157-66.

APÊNDICE