

ELCIO SHIYOITI HIRANO

Este exemplar corresponde a versão final da
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Cirurgia da FCM/UNICAMP,
para obtenção do título de Mestre em Cirurgia do
Médico, **ELCIO SHIYOITI HIRANO, RA:985643.**
Campinas, 18 de abril de 2002.

Prof. Dr. Mario Mantovani - Orientador

***ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL EM
CONDIÇÕES DE NORMALIDADE E SOB ESTADO DE
CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO:
EFEITOS NO SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS
NO RIM DO RATO***

CAMPINAS

2002

i

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE**

ELCIO SHIYOITI HIRANO

***ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL EM
CONDIÇÕES DE NORMALIDADE E SOB ESTADO DE
CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO:
EFEITOS NO SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS
NO RIM DO RATO***

*Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de
Mestre em Cirurgia, área de Cirurgia*

ORIENTADOR: PROF. DR. MARIO MANTOVANI

CAMPINAS

2002

iii

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE 82
Nº CHAMADA T/UNICAMP
H613
V EX
TOMBO BC/ 50525
PROC 16-837/02
C DX
PREÇO R\$11,00
DATA 22/08/02
Nº CPD _____

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM00172313-6

BIB ID 252429

~~H623~~
H613i

Hirano, Elcio Shiyoití

Isquemia e reperfusão hepática total em condições de normalidade e sob estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no seqüestro de neutrófilos no rim do rato / Elcio Shiyoití Hirano. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Mario Mantovani

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

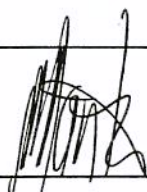
1. Isquemia. 2. Reperfusão. 3. Rim. 4. Neutrófilos. 5. Fígado.
I. Mario Mantovani. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

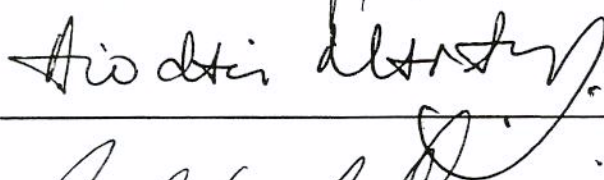
Orientador: Prof. Dr. MARIO MANTOVANI

Membros:

1.



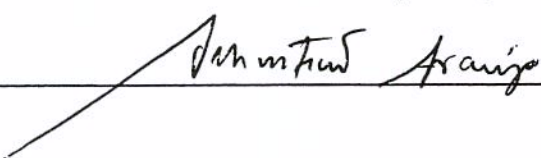
2.



3.



4.



Curso de pós-graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 18/04/2002

899K 2002

DEDICATÓRIA

*À minha esposa Elaine, pela
paciência, compreensão e carinho que
me demonstrou durante a realização
deste sonho.*

Ao mestre, Prof. Dr. Mario Mantovani, por me acolher em sua Disciplina como aluno de Pós-Graduação, onde durante todo este período transmitiu-me conhecimentos científicos e pessoais, fatores que constituíram a essência da minha motivação e dedicação na realização deste trabalho, e soube com nitidez apresentar-me os principais conceitos para iniciação da carreira universitária.

À Dra. Rosana Celestina Morandin, bióloga, pela sua paciência, dedicação e colaboração de modo persistente, oferecendo-me toda condição técnica durante a elaboração deste projeto.

Ao Dr. Mauro José Pantoja Fontelles, amigo e colaborador, que me auxiliou de maneira constante na realização deste trabalho.

Aos biólogos Ana Cristina de Moraes e William Adalberto Silva e aos técnicos Miguel Luiz Cândido e Waldemir Benedito Costa, do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental, pelos ensinamentos transmitidos e a amizade durante este convívio.

Ao Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo que durante todo este período soube me transmitir os conceitos primordiais dentro da carreira universitária.

Aos amigos, Dr. Sinobu Matsumoto, Dra. Alice Nishimura, Dr. Lauro Takaoka, Dra. Mirtes Pignatari Micelli e Dr. Otavio Micelli Jr. que foram responsáveis pela minha motivação e persistência e conseqüente ingresso no curso de Medicina.

Aos colegas e amigos, Dr. Carlos Alberto Salomão Muraro e Dr. Hilton Mazzini, por me terem orientado nos primeiros movimentos com o instrumental cirúrgico, como na postura e comportamento na formação do âmagos de um médico.

Aos colegas e amigos da Disciplina de Cirurgia do Trauma da Unicamp, Dr. Waldemar Prandi Filho, Dr. Jorge Machado Curi, Dr. Luiz A. Albejante, Dr. José B. Bortoto, Dr. Gustavo Fraga, Dr. Guilherme V. Meirelles, Dr. André Pierro e Dr. Marcelo Villaça, pelos ensinamentos e a agradável amizade no convívio universitário.

Aos colegas e amigos, Dr. Mario Augusto Marchezan Rodrigues e Dr. Mario Costa Couto, que muito me ensinaram durante a residência médica.

Aos colegas e amigos, Dr. Adriano Marcelo Ramon Chaves, Dr. Marcelo Kassouf, Dra. Rosimara Denaldi e Dr. Marco A. Teixeira, pela amizade e o carinho demonstrado de forma constante a cada dia no cumprimento de nossa missão de Ser Médico.

Aos colegas, Dr. Willian Cirillo, Dr. Roberto Chaves, Dr. Carlos A. F. Carmona, Dr. Ricardo Benetti, Dra. Patrícia Asfora F. Ron, Dr. Pedro P. Campos Neto, Dra. Cléa Simone S. S. Colombo, Dra. Mirella Povinelli, Dr. Marcelo Nardi Pedro, Sra. Maria José B. Neder, Sra. Neusa Re, Sra. Benedita Puelker, Sra. Silvana Kon, Enfª Fátima Mei e demais integrantes da equipe do Pronto Socorro do HC – Unicamp, que, diariamente, no esforço mútuo, desempenham papel fundamental no atendimento e cuidados aos pacientes e familiares que procuram o nosso auxílio.

Aos meus irmãos, Fábio e William pela união e amizade nos momentos difíceis que a vida nos trouxe e juntos conseguimos transpô-los.

Desde as minhas primeiras recordações agradeço ao meu pai, Shiyojiro Hirano, por me ensinar que a família faz parte do coração e da existência de uma pessoa.

“Lembre-se com prazer dos momentos em que você sentiu profunda satisfação no trabalho: quando você teve uma idéia brilhante, participou de um grupo de trabalho amigável, descobriu a resposta para uma questão complicada, sentiu o bom cansaço de um dia bem vivido.”

Daniel Grippio

	<i>PÁG.</i>
RESUMO	<i>xxxí</i>
1. INTRODUÇÃO	35
2. REVISÃO DA LITERATURA	41
2.1. Choque hipovolêmico hemorrágico traumático.....	43
2.2. Trauma hepático.....	45
2.3. Manobra de pringle.....	47
2.4. Isquemia e reperfusão tecidual.....	49
2.5. Isquemia e reperfusão renal.....	51
2.6. Células polimorfonucleares.....	52
3. MÉTODO	57
3.1. Local de realização.....	59
3.2. Animais.....	59
3.3. Grupos de animais estudados.....	59
3.4. Anestesia.....	60
3.5. Procedimentos cirúrgicos.....	61
3.6. Instalação do choque hemorrágico, reposição volêmica e PAM.....	64
3.7. Monitorização, controles e amostras.....	64
3.8. Sacrifício dos animais.....	65
3.9. Retirada dos órgãos.....	65
3.10. Contagem de neutrófilos no rim à microscopia óptica.....	66
3.11. Dosagem do lactato sangüíneo.....	66

3.12. Determinação do equilíbrio ácido-básico, eletrólitos, hematócrito e hemoglobina.....	67
3.13. Método estatístico.....	67
4. RESULTADOS.....	69
4.1. Animal de experimentação.....	71
4.1.1. Peso.....	71
4.1.2. Variáveis.....	71
4.2. Manobra de pringle no rato.....	73
4.3. Monitorização dos sinais vitais.....	74
4.4. Alterações metabólicas.....	81
4.4.1. Valores do pH.....	81
4.4.2. Valores da diferença de base.....	82
4.4.3. Valores do lactato sangüíneo.....	85
4.4.4. Evolução das variáveis metabólicas.....	88
4.5. Seqüestro de neutrófilos no rim.....	92
4.6. Mortalidade.....	96
5. DISCUSSÃO.....	97
5.1. Estudo-piloto.....	99
5.2. Animal de experimentação.....	101
5.3. Modelo experimental de isquemia e reperfusão hepática.....	102
5.4. Período de reperfusão hepática.....	103
5.5. Anestesia.....	103
5.6. Lactato sangüíneo e diferença de base no choque.....	104
5.7. Seqüestro de neutrófilos no rim.....	105

5.8. Mortalidade.....	107
5.9. Considerações finais.....	108
6. CONCLUSÃO.....	109
7. SUMMARY.....	113
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
9. ANEXOS.....	129

ATP	adenosina trifosfato
CH	choque hemorrágico
DB	diferença de base
ECG	eletrocardiograma
FC	frequência cardíaca
FR	frequência respiratória
HE	hematoxilina-eosina
Ht	hematócrito
ICAM-1	molécula de adesão intercelular-1
I/R	isquemia/reperfusão
K	potássio
MP	Manobra de Pringle
PAM	pressão arterial média
PMN	polimorfonucleares
PVC	pressão venosa central
RL	ringer lactato
RP 0	início da reperfusão
RP 30	reperfusão de 30 minutos
RP 60	reperfusão de 60 minutos
SARA	síndrome da angústia respiratória aguda
SDMO	síndrome de disfunção de múltiplos órgãos
SR	síndrome de reperfusão
SRIS	síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SVI	sinais vitais iniciais
TR	temperatura retal

	PÁG.
Tabela 1: Gravidade do choque hemorrágico.....	44
Tabela 2: Escala de gravidade da lesão hepática.....	46
Tabela 3: Peso dos animais conforme o grupo estudado.....	71
Tabela 4: Valores da média e desvio-padrão iniciais das variáveis.....	72
Tabela 5: Valores médios da PAM em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	75
Tabela 6: Valores médios do pH em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	81
Tabela 7: Valores médios da DB em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	83
Tabela 8: Valores médios do lactato sangüíneo em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	85
Tabela 9: Número de neutrófilos, por campo, no rim, conforme o grupo estudado.....	94
Tabela 10: Número de óbitos conforme o grupo estudado.....	96

	PÁG.
Figura 1: Animal de experimentação em prancha térmica de controle elétrico...	61
Figura 2A: Seta mostra a veia porta no ligamento hepatoduodenal.....	63
Figura 2B: Realização da Manobra de Pringle (pinçamento do pedículo hepático).....	63
Figura 3: As setas indicam os campos examinados, conforme a seqüência demonstrada.....	66
Figura 4A: Aspecto das alças intestinais antes da MP.....	73
Figura 4B: Aspecto das alças intestinais nos primeiros minutos após a MP. Observa-se intensa congestão venosa.....	74
Figura 5A: Microscopia óptica do córtex renal (HE 100x).....	92
Figura 5B: Presença de um neutrófilo (seta), no córtex renal (HE 1000x).....	93

	PÁG.
Gráfico 1: Valores da PAM em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	76
Gráfico 2: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Controle.....	77
Gráfico 3: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Choque	78
Gráfico 4: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Pringle.....	79
Gráfico 5: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Choque-Pringle.....	80
Gráfico 6: Valores médios do pH em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	82
Gráfico 7: Valores médios da DB em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	84
Gráfico 8: Valores médios do lactato sanguíneo em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.....	87
Gráfico 9: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Controle.....	88
Gráfico 10: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Choque.....	89
Gráfico 11: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Pringle.....	90
Gráfico 12: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Choque-Pringle.....	91
Gráfico 13: Valores relativos ao acúmulo de neutrófilo/campo, no córtex renal, conforme o grupo estudado.....	95

LISTA DE ORGANOGRAMA

	<i>PÁG.</i>
Organograma 1: Desenvolvimento do estudo experimental.....	68



RESUMO

O fígado é um dos órgãos mais atingidos no trauma abdominal e o princípio básico e inicial do tratamento da lesão hepática sangrante é o controle da hemorragia. A oclusão temporária do ligamento hepatoduodenal que contém a veia porta, a artéria hepática e ducto biliar, conhecida como Manobra de Pringle (MP), diminui a perda volêmica permitindo ao cirurgião corrigir a lesão hepática e ao anestesista realizar a ressuscitação.

Apesar de ser uma manobra rápida, fácil e eficaz, este procedimento provoca isquemia total do fígado, podendo levar a alterações importantes nos hepatócitos, piorando na fase de reperfusão devido à liberação de substâncias, como as citocinas, que desencadeiam a resposta inflamatória sistêmica.

Neste experimento foram utilizados 32 ratos adultos da raça Wistar, machos, com peso que variou de 185 a 240 gramas, com idade aproximada de sete semanas.

Os animais foram randomizados e divididos em quatro grupos:

Grupo Controle: condições de normalidade, submetidos às cateterizações e laparotomia, seguido de um período de 60 minutos de observação.

Grupo Choque: estado de choque hemorrágico (CH) controlado, seguido de reposição volêmica e de 60 minutos de reperfusão.

Grupo Pringle: MP por 15 minutos, seguido de reperfusão de 60 minutos.

Grupo Choque-Pringle: estado de CH controlado, seguido de laparotomia e MP, com reposição volêmica durante a MP, seguido de 60 minutos de reperfusão.

A anestesia foi realizada por inoculação intraperitoneal de uma solução de xylazina, cetamina e atropina.

O estado de CH controlado foi obtido através de sangria pela artéria carótida direita.

A reposição volêmica foi realizada por intermédio da veia jugular direita.

A monitorização contínua da pressão arterial média (PAM) foi realizada através da artéria femoral direita.

Para caracterizar a má perfusão tecidual foram medidos o lactato sangüíneo e a diferença de base.

Após o período de reperfusão os animais foram sacrificados por exsangüinação pela artéria carótida direita.

Após seguir os modelos dos grupos o rim foi fixado em formalina 10%, embebido em parafina, cortado e corado para estudo histológico do número de neutrófilos por campo no córtex renal.

Os resultados demonstraram que o presente modelo experimental proporcionou o seqüestro de neutrófilo, sendo que a MP não foi a principal condição.

Quando os resultados dos grupos foram comparados entre si, observou-se que o estado de CH foi o principal responsável pelo maior acúmulo de neutrófilos no córtex renal, isto é, o valor encontrado no grupo Choque foi maior que os demais.



1. INTRODUÇÃO

O estado de choque define-se como má perfusão tecidual.

A etiologia pode ser de origem vasogênica, neurogênica, cardiogênica e hipovolêmica (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Nas vítimas de trauma, a causa mais freqüente do choque é a hipovolemia.

No Brasil, as causas externas de mortalidade, que incluem agressões e acidentes de transporte, ocupam o primeiro lugar.

Este fato coloca epidemiologicamente o trauma como a principal causa de óbito na faixa da terceira década de vida (Datasus – <http://www.datasus.gov.br>).

Nos mamíferos, o CH produz alterações no sistema cardiorrespiratório com o objetivo de manter a função fisiológica dos órgãos. A principal alteração é o desvio do fluxo sangüíneo da pele, músculos e leito esplâncnico para o coração, pulmão e cérebro (BITTERMAN *et al.*, 1996; SILVA & FIGUEIREDO, 1999).

Há outras alterações no organismo decorrentes à hipoperfusão causada pelo CH como: metabolismo anaeróbico, acidose metabólica, produção de mediadores inflamatórios, lesão celular e a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO) (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Devido a essa redistribuição do fluxo sangüíneo ocorre a isquemia tecidual de outros órgãos, como por exemplo, nos rins (POGETTI, SOUZA, FONTES, 1999) .

No traumatismo abdominal, o fígado é um dos órgãos mais acometidos (FELICIANO *et al.*, 1986; PACHTER & FELICIANO, 1996; PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

Atualmente, com a normatização de protocolo nas condutas, houve decréscimo dos casos de óbitos nos traumas hepáticos de grau III e IV, atingindo índices abaixo de 10% (PACHTER & FELICIANO, 1996).

No traumatismo hepático complexo o objetivo inicial é o controle do sangramento para evitar a exsangüinação durante o procedimento cirúrgico.

Este controle pode ser realizado através da MP, que consiste na oclusão temporária da triade portal (artéria hepática, ducto biliar comum e veia porta) localizada no ligamento hepatoduodenal (PRINGLE, 1908).

Portanto, a equipe cirúrgica terá condições de estabilizar o estado hemodinâmico, assim como de localizar e identificar o tipo de lesão e a conduta a ser instituída.

A MP interrompe o fluxo sangüíneo produzindo isquemia hepática, bem como congestão venosa no leito esplâncnico (AKAGI & AKAGI, 1992; HIRANO, MORANDIN, MANTOVANI, 1999), o que resulta posteriormente em isquemia intestinal (GONCE *et al.*, 1995; RUSSELL *et al.*, 1995).

Com déficit de oxigênio as células entram em metabolismo anaeróbico, passo inicial para a acidose metabólica. Ocorre a utilização do piruvato como fonte energética e, conseqüentemente eleva-se o lactato sérico. Esse processo fornece duas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) (HUCKABEE 1958; CADY, WEIL, ABDELMONEM, 1973; DAVIS *et al.*, 1988; ANDERSON & VASLEF, 1999).

O lactato é um ótimo parâmetro bioquímico para avaliar o estado de choque e a ressuscitação (BRODER & WEIL, 1964; BLAIR, COWLEY, TAIT, 1965; VITEK & COWLEY, 1971; JENG *et al.*, 1997; PORTER & IVATURY, 1998; SHAH *et al.*, 1998; MOOMEY *et al.*, 1999).

Na literatura, a diferença de base (DB) foi utilizada também como parâmetro na avaliação do choque e ressuscitação (DAVIS *et al.*, 1988; DAVIS, 1994; KINCAID *et al.*, 1998).

Os eventos que ocorrem na fase de reperfusão caracterizam a síndrome de reperfusão (SR).

O CH causa hipoperfusão renal, levando à lesão celular e disfunção do órgão. Essas alterações renais não ocorrem somente na isquemia como também no período de reperfusão (BURKE *et al.*, 1986; PARKS & GRANGER, 1988; AKIN *et al.*, 1993).

As alterações funcionais e morfológicas do rim na SDMO ocorrem devido à hipoperfusão tecidual, sendo que a redistribuição do fluxo sanguíneo afeta primeiramente o córtex renal (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Na literatura, os estudos sobre a SDMO demonstram a importância da participação do neutrófilo no desenvolvimento dessa síndrome.

As funções dos neutrófilos só serão exercidas desde que eles estejam “ativados” por um estímulo. Diante disso, tais células podem se encontrar em quatro situações: quiescentes, sensibilizados, ativados e não responsivos (BOTHIA *et al.*, 1995a):

Os neutrófilos seqüestram-se de modo indiscriminado em tecidos normal ou lesado e, a partir desse evento, são ativados para produzirem O_2^- e, conseqüentemente, desenvolver síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) seguido de SDMO (VEDDER *et al.*, 1989).

Portanto, além da injúria pela isquemia tecidual, seja em condições de normovolemia ou hipovolemia, a ação dos neutrófilos seqüestrados nos tecidos promove uma agressão contínua aos órgãos, representando a alavanca inicial da patogênese da SDMO.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o seqüestro de neutrófilos no córtex renal como efeito da isquemia e reperfusão hepática em condições de normovolemia e hipovolemia.



2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. CHOQUE HIPOVOLÊMICO HEMORRÁGICO TRAUMÁTICO

O estado de choque define-se como má perfusão tecidual.

A etiologia pode ser de origem vasogênica, neurogênica, cardiogênica e hipovolêmica (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Choque Neurogênico: ocorre após trauma raquimedular, anestesia espinal ou trauma craniencefálico grave devido à perda do tônus simpático no leito vascular, ocasionando uma vasodilatação venosa e arteriolar. Isto promove aumento da capacitância venosa.

Choque Vasogênico: há uma vasodilatação venosa e arteriolar semelhante à que ocorre no choque neurogênico, porém, isto é ocasionado por mediadores vasoativos endógenos e exógenos associados à SRIS, à sépsis, insuficiência adrenocortical e anafilaxia.

Choque Cardiogênico: ocorre quando o coração não é capaz de gerar um débito cardíaco adequado para a perfusão tecidual. Há fatores intrínsecos, por exemplo: pneumotórax hipertensivo e tamponamento cardíaco.

Choque Hipovolêmico: ocorre através de perdas hemorrágicas em trauma, sangramento do trato gastrointestinal, ruptura de aneurismas, seqüestro de líquido no espaço extravascular e perdas líquidas intestinais.

Nas vítimas de trauma, a causa mais freqüente do choque hipovolêmico é a perda sangüínea nas lesões ocorridas, definindo o choque hipovolêmico hemorrágico traumático.

No Brasil, as causas externas de mortalidade, que incluem agressões e acidentes de transporte, ocupam o primeiro lugar.

Este fato coloca epidemiologicamente o trauma como a principal causa de óbito na faixa da terceira década de vida (Datasus – <http://www.datasus.gov.br>)

Define-se a gravidade do CH conforme a perda sangüínea (TABELA 1).

***Tabela 1:** Gravidade do Choque Hemorrágico

Grau	Perda %	P.S.	Pulso	P.P.	Ench. capilar	S.N.C.	F.R.	Débito Urinário
I	< 15%	N	N	N	N	N	N	N
II	15-30%	N	>100	↓	Lento	Ansioso	↑	20-30ml/h
III	30-40%	↓	> 120	↓	Lento	Confuso	↑↑	20ml/h
IV	> 40%	↓↓	> 140	↓↓	Ausente	Letárgico	↑↑↑	↓↓

N=normal; ↓=diminuído; ↓↓= acentuada diminuição; ↑ = levemente aumentada; ↑↑=aumentada;↑↑↑ = aumento acentuado; P.P.= Pressão de Pulso; F.R.= Frequência Respiratória; S.N.C.= Sistema Nervoso Central; P.S.= Pressão Sistólica

*apud ANDERSON & VASLEF, 1999

Nos mamíferos, o CH produz alterações no sistema cardiorrespiratório com o objetivo de manter a função fisiológica dos órgãos. A principal alteração é desvio do fluxo sangüíneo da pele, músculos e leito esplâncnico para o coração, pulmão e cérebro (BITTERMAN *et al.*, 1996; SILVA & FIGUEIREDO, 1999; BOGOSSIAN & BOGOSSIAN, 2001).

Há outras alterações no organismo devidas a hipoperfusão causada pelo CH como metabolismo anaeróbico, acidose metabólica, produção de mediadores inflamatórios, lesão celular e a SDMO (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Devido a essa redistribuição do fluxo sangüíneo, ocorre a isquemia tecidual de outros órgãos como, por exemplo, nos rins (POGETTI, SOUZA, FONTES,1999; BOGOSSIAN & BOGOSSIAN, 2001).

2.2. TRAUMA HEPÁTICO

No traumatismo abdominal, o fígado é um dos órgãos mais acometidos (FELICIANO *et al.*, 1986; PACHTER & FELICIANO, 1996; PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

Este fato se deve à localização anatômica desse órgão na cavidade abdominal. Ele se dispõe desde o hipocôndrio direito até o lado esquerdo da linha média do abdome, está sob a proteção dos últimos arcos costais, situação que eleva o risco de lesões nos traumatismos toracoabdominais, pois as extremidades das fraturas dos arcos costais podem atingir o fígado no momento do trauma (MARTINS, 1997; PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

Na 1ª Guerra Mundial o traumatismo hepático apresentava 66,2% de mortalidade, e, na 2ª, este índice diminuiu para 27,7%. Com o aprimoramento dos cuidados pré e pós-operatórios na Guerra da Coréia e na Guerra do Vietnã, a mortalidade atingiu 15%. No ambiente civil as lesões hepáticas são de menor gravidade, com taxa de 10% de mortalidade dos casos (PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

Entretanto, os traumatismos hepáticos complexos acompanhados de sangramento ativo das lesões e instabilidade hemodinâmica apresentam 50% de mortalidade (PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

O trauma hepático pode ser classificado conforme a gravidade da lesão (TABELA 2) (MOORE, *et al.*, 1989; WILSON & MOOREHEAD, 1991; PACHTER & FELICIANO, 1996; PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

****Tabela 2: Escala de gravidade da lesão hepática (Revisão 1994)**

Grau	Características
I Hematoma	Subcapsular, não expansivo e < 10% da superfície
Laceração	Laceração da cápsula, não sangrante, < 1 cm de profundidade
II Hematoma	Subcapsular, não expansivo, 10-50% da superfície. Intraparenquimatoso não expansivo e < 2 cm diâmetro
Laceração	Laceração da cápsula, sangramento ativo, 1-3 cm de profundidade e < 10 cm de extensão
III Hematoma	Subcapsular, > 50% da superfície ou em expansão. Ruptura de hematoma intraparenquimatoso > 2 cm ou em expansão.
Laceração	> 3 cm de profundidade
IV Hematoma	Ruptura de hematoma intraparenquimatoso com sangramento ativo.
Laceração	Dilaceração parenquimatosa envolvendo 25-50% de um lobo hepático.
V Laceração	Dilaceração parenquimatosa > 50% de um lobo hepático.
Vascular	Lesões venosas justa-hepáticas, lesões veia cava retrohepática e lesão de veias supra-hepáticas
VI Vascular	Avulsão hepática

**apud PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999.

Atualmente, com a normatização de protocolo nas condutas houve decréscimo dos casos de óbitos nos traumas hepáticos de graus III e IV, atingindo índices abaixo de 10%. As condutas mais relevantes são: o uso da tomografia computadorizada nas lesões hepáticas no trauma abdominal fechado para tratamento expectante nos pacientes estáveis; a aplicação da MP; hipotermia do fígado; hepatorrafia com hemostasia intrahepática pela técnica de Lin; “packing” perihepático para “damage control” diante de instabilidade hemodinâmica e distúrbios da coagulação; aplicação ou não de “shunt” intracaval nas lesões venosas justahepáticas (PACHTER, SPENCER, HOFFSTETTER, 1983; PACHTER, *et al.*, 1992; PACHTER & FELICIANO, 1996; PACHTER, LIANG, HOFSTETTER, 1999).

2.3. MANOBRA DE PRINGLE

No traumatismo hepático complexo o objetivo inicial é o controle do sangramento, para evitar a exsanguinação durante o procedimento cirúrgico. Isto é possível através da MP, que consiste na oclusão temporária da tríade portal (artéria hepática, ducto biliar comum e veia porta) localizada no ligamento hepatoduodenal (PRINGLE, 1908).

Portanto, a equipe cirúrgica terá condições de estabilizar o estado hemodinâmico, assim como localizar e identificar o tipo de lesão e a conduta a ser instituída.

A MP interrompe o fluxo sanguíneo produzindo isquemia hepática, bem como congestão venosa no leito esplâncnico (AKAGI & AKAGI, 1992; HIRANO, MORANDIN, MANTOVANI, 1999), o que resulta posteriormente em isquemia intestinal (GONCE *et al.*, 1995; RUSSELL *et al.*, 1995).

A circulação esplâncnica é sensível ao fator isquemia, seja por hipofluxo arterial ou conseqüente à congestão venosa. A isquemia do leito esplâncnico promove ativação dos PMN, e aumenta a permeabilidade da barreira mucosa favorecendo a translocação bacteriana e o acúmulo de líquido no interstício, fatores que levam a manter o estado de CH com instalação da SRIS e SDMO (AKAGI & AKAGI, 1992; HIRANO, MORANDIN, MANTOVANI, 1999; SOUZA, *et al.*, 2000; BOGOSSIAN & BOGOSSIAN, 2001).

Atualmente, os modelos experimentais de isquemia e reperfusão hepática em ratos baseiam-se em isquemia parcial, total, parcial intermitente e total intermitente.

No modelo experimental de isquemia parcial, durante o período de reperfusão, não ocorre o retorno do fluxo sanguíneo de modo uniforme em todos os lobos hepáticos. As áreas hepáticas previamente isquêmicas recebem um menor fluxo sanguíneo durante a reperfusão. Essa diferença foi evidenciada em modelo experimental (HAYASHI *et al.*, 1986), em que o lobo isquêmico teve 50% do fluxo sanguíneo enquanto que o lobo não isquêmico teve 134%. Contudo, os resultados no modelo de isquemia parcial podem apresentar dificuldades de interpretações.

Em estudo experimental verificou-se que um período de até 15 minutos de isquemia hepática parcial intermitente, com clampeamento do pedículo esquerdo, não acarretou lesões irreversíveis (HORIUCHI *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 1998).

Na isquemia hepática total intermitente realiza-se a MP seguida por um período de reperfusão; este ciclo é repetido enquanto se prossegue o ato cirúrgico. Quando se realizam ciclos de 15, 30 e 60 minutos de MP em ratos, em condições normais, a sobrevivência é de 90, 90 e 30%, respectivamente (ISOZAKI *et al.*, 1995). Também foi demonstrado, nas mesmas condições acima, que há menor produção de radicais livres em comparação à MP contínua (UCHINAMI *et al.*, 1998).

No modelo experimental de isquemia total, há na literatura autores que realizaram “shunt” com o intuito de diminuir a congestão venosa esplâncnica, como entre o ramo cecal da veia porta e a veia jugular (MARUBAYASHI *et al.*, 1986) e entre as veias cava e porta (ISOZAKI *et al.*, 1992).

Estudos demonstraram que somente a MP acima de 30 minutos, em ratos, é potencialmente letal (MEIJA, 1964; GONCE *et al.*, 1995).

A isquemia esplâncnica promove ativação de macrófagos e células epiteliais causando lesão do endotélio e danificando a barreira epitelial da mucosa intestinal. Essas alterações favorecem a translocação bacteriana, a absorção de endotoxina do lúmen intestinal e o aumento da produção de mediadores inflamatórios que atuam no local e em órgãos distantes (RUSSELL *et al.*, 1995; BITTERMAN *et al.*, 1996).

A permanência da oclusão da tríade portal é discutível, havendo vários relatos na literatura sobre o tempo máximo seguro, uma vez que a lesão no período de reperfusão hepática é diretamente proporcional à duração da isquemia (HUGUET, NORDLINGER, BLOCH, 1978; DELVA *et al.*, 1989; PACHTER *et al.*, 1992; RODRIGUES *et al.*, 1991; KOMATSU *et al.*, 1992).

Após a liberação do ligamento hepatoduodenal o fluxo sanguíneo hepático é restaurado, causando reoxigenação e reperfusão, eventos que mantêm o processo de lesão tecidual devido à formação de radicais livres e citocinas pelos polimorfonucleares (PMN) locais do tecido.

Os radicais livres e citocinas produzidos no fígado, além dos efeitos lesivos locais, causam repercussão em órgãos distantes.

Com o retorno do fluxo venoso pela veia porta, tem-se a passagem de outro contingente de citocinas e radicais livres produzidos no leito esplâncnico devido à isquemia intestinal provocada pela MP. Diante desses fatos, o fígado é alvo dos radicais livres e citocinas nas duas circunstâncias.

Durante a reperfusão hepática ocorre depressão miocárdica e da dilatação do sistema arterial causando bradicardia, queda da PAM e resistência vascular sistêmica, assim como aumento da pressão venosa central (PVC) e da pressão arterial pulmonar média. Essas alterações são acompanhadas por hipercalemia. (AGGARWAL *et al.*, 1987).

GONCE *et al.* (1995) constataram área de edema e hemorragia no fígado no período de reperfusão hepática com um tempo de isquemia de 45 e 60 minutos. Entretanto, todos os animais submetidos à isquemia desde o período de 15 a 60 minutos apresentaram petéquias na serosa da parede intestinal.

2.4. ISQUEMIA E REPERFUSÃO TECIDUAL

A isquemia tecidual causa diminuição da oferta do oxigênio e da glicose causando a paralisação do metabolismo oxidativo, provocando a queda do ATP.

Com o déficit de oxigênio as células entram em metabolismo anaeróbico, passo inicial para a acidose metabólica. Ocorre a utilização do piruvato como fonte energética e, conseqüentemente, eleva-se o lactato sérico. Esse processo fornece duas moléculas de ATP (HUCKABEE, 1958; CADY, WEIL, ABDELMONEM, 1973; DAVIS *et al.*, 1988; ANDERSON & VASLEF, 1999).

Com a diminuição da reserva de ATP, devido ao consumo celular e à baixa produção pelo metabolismo anaeróbico, ocorre alteração na bomba de sódio e potássio (K) da membrana celular, a qual é energia dependente. Isso provoca aumento do sódio intracelular e conseqüente acúmulo de água, enquanto que o potássio intracelular diminui e o extracelular se eleva (JORGE, CURTI, METZE, 1991).

A hipoxia tecidual provoca queda da pressão de oxigênio intracelular, o que compromete a função mitocondrial e a integridade das membranas celulares e de organelas, por exemplo, lisossomos, levando à autodigestão e à morte celular (AMBROSIO *et al.*, 1987; BITTERMAN *et al.*, 1996).

A isquemia tecidual também é interpretada como remoção ineficaz de produtos do metabolismo, especialmente o lactato, hidrogênio e K (JORGE, CURTI, METZE, 1991).

Há patologias clínicas, sem isquemia tecidual, em que ocorre a hiperlactatemia, como na insuficiência hepática que retarda a depuração (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Parâmetros clínicos como pressão arterial, PVC e frequência cardíaca (FC) são freqüentemente utilizados para avaliar o estado de choque, porém, esses índices podem sofrer alterações em virtude da resposta compensatória e de medicações administradas (DAVIS, 1994; SHAH *et al.*, 1998).

A normalização da PVC após o período de choque pode estabelecer um estado de hipervolemia (McNAMARA *et al.*, 1983).

Os valores de referência do lactato são (www.sbcm-rj.org) :

- a) sangue venoso : 0,5 – 2,2 mmol/L ou 4,5 – 19,8 mg/dL
- b) sangue arterial: 0,5 – 1,6 mmol/L ou 4,5 – 14,4 mg/dL
- c) Valor emergencial – risco imediato de vida: > 45 ,0 mg/dL

O lactato é um ótimo parâmetro bioquímico para avaliar o estado de choque e a ressuscitação (BRODER & WEIL, 1964; BLAIR, COWLEY, TAIT, 1965; VITEK & COWLEY, 1971; JENG *et al.*, 1997; PORTER & IVATURY, 1998; SHAH *et al.*, 1998; MOOMEY *et al.*, 1999; CHIARA, *et al.*, 2001).

GONCE *et al.* (1995) demonstraram que em ratos submetidos somente à MP por 15 minutos, após 60 minutos de reperfusão o lactato sérico retornava próximo aos valores normais. Nos animais que foram submetidos a 30, 45 e 60 minutos de isquemia hepática houve aumento diretamente proporcional.

Na literatura, a DB foi utilizada também como parâmetro na avaliação do choque e ressuscitação (DAVIS *et al.*, 1988; DAVIS, 1994; KINCAID *et al.*, 1998; CHIARA *et al.*, 2001).

O déficit da reserva de base pode ser assim classificado (DAVIS *et al.*, 1988):

- a) Leve: -3 a -5 mEq/l
- b) Moderado: -6 a -14 mEq/l
- c) Severo: $\leq$ -15 mEq/l

Com o decorrer do período de isquemia ocorre a instalação da acidose metabólica, o que compromete a bomba de cálcio, fazendo elevar sua concentração no citoplasma celular, e este evento é acentuado durante a fase de reperfusão (BURKE *et al.*, 1986; JORGE, CURTI, METZE, 1991), caracterizando a SR.

Essa síndrome causa lesão tecidual e um dos mecanismos é a produção de radicais livres de oxigênio, em particular o ânion superóxido (O_2^-) (AMBROSIO *et al.*, 1987). Esses eventos perpetuam um ciclo de injúria orgânica levando à SRIS e à SDMO (DEB *et al.*, 1999).

2.5. ISQUEMIA E REPERFUSÃO RENAL

O CH causa hipoperfusão renal, levando à lesão celular e disfunção do órgão. Essas alterações renais não ocorrem somente na isquemia, mas também no período de reperfusão (BURKE *et al.*, 1986; PARKS & GRANGER, 1988; AKIN *et al.*, 1993).

A presença concomitante de CH no trauma causa uma intensa vasoconstrição renal e redução do seu fluxo sanguíneo como resposta do Sistema Nervoso Simpático e do Sistema Renina-Angiotensina (BURKE *et al.*, 1986). Ocorre também o desvio do fluxo sanguíneo renal intrínseco do córtex para a medula e região justaglomerular com o intuito de manter a filtração glomerular (BITTERMAN *et al.*, 1996).

Durante a isquemia, as células renais, como as dos demais tecidos, sofrem diminuição do estoque de ATP.

Após a ressuscitação do CH, com a correção da acidose metabólica, há um aumento da oferta de oxigênio, proporcionando a formação de radicais livres de oxigênio.

Devido à ação dos radicais livres de oxigênio associada a outros fatores, como aumento do cálcio do citosol e mitocondrial, na fase de reperfusão ocorre a morte celular.

As alterações funcionais e morfológicas do rim na SDMO acontecem em virtude da hipoperfusão tecidual, e a redistribuição do fluxo sanguíneo afeta primeiramente o córtex renal (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Durante a isquemia, histologicamente, na região do córtex renal ocorre acúmulo de proteína e espessamento do folheto parietal da cápsula de Bowman e degeneração dos túbulos proximal e distal. Na região da medula constata-se dilatação e degeneração tubular (AKIN *et al.*, 1993). Outros estudos experimentais demonstraram necrose tubular aguda (FURUICHI, *et al.*, 2002; USHIGOME, *et al.*, 2002).

A disfunção renal da SDMO, desencadeada pela isquemia tecidual devido ao CH, associada ao trauma hepático, decorre da ação de células inflamatórias, como os PMN e seus mediadores (ANDERSON & VASLEF, 1999).

O período de reperfusão também desencadeia um processo inflamatório independente das alterações imunológicas concomitantes, como por exemplo, ativação das moléculas de adesão (DRAGUN *et al.*, 2000).

2.6. CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES

As funções do PMN compreendem a defesa contra agentes nocivos e estranhos ao organismo como, por exemplo, bactérias, vírus, parasitas ou moléculas inertes.

Nessas situações, ou diante de estímulos externos como o trauma, os PMN podem se encontrar tanto em estado de hiperatividade como de hipoatividade.

A função de defesa dos PMN compreende a quimiotaxia, aderência ao endotélio vascular, a fagocitose e a atividade bactericida (VEDDER *et al.*, 1989; ANDERSON, BROWN, HARKEN, 1991; LORENZI, 1991; MARTINS, 1997).

A quimiotaxia é a capacidade da locomoção através de ação de elementos denominados agentes quimiotáticos como:

- Toxinas bacterianas;
- Produtos derivados de células e tecidos necrosados, inclusive outros leucócitos.
- Elementos do sistema complemento: fragmentos C3, C5, C567;
- Proteínas estranhas ou desnaturadas;
- Produtos de degradação da fibrina, calicreína e ativador do plasminogênio

As funções dos PMN só serão exercidas desde que eles estejam “ativados” por um estímulo e, diante disso, tais células podem se encontrar em quatro situações: quiescentes, sensibilizadas, ativadas e não responsivas (BOTHÁ *et al.*, 1995a):

- PMN quiescentes: estado natural, sem estímulo externo, produzem mínimo ou nenhum radical O_2^- ;
- PMN sensibilizados: ou “primed”, que após um primeiro estímulo (agente sensibilizante), um segundo estímulo (agente ativador) leva essas células a produzirem uma grande quantidade de radicais O_2^- . O fenômeno produzido pelo primeiro estímulo é denominado sensibilização ou “priming”. Um exemplo clássico dessa condição é a isquemia e reperfusão tecidual.
- PMN ativados: produzem de modo contínuo grande quantidade de radicais O_2^- ;
- PMN não responsivos: esgotados, que não produzem radicais O_2^- sob qualquer tipo de estímulo.

Os PMN ativados, além da produção de radicais O_2^- , liberam outras substâncias denominadas mediadores que incluem: enzimas granulares (exemplos: mieloperoxidase e elastase), lipídeos bioativos e citocinas (RUBIN *et al.*, 1990; WARD, 1993; GRACE, 1994; FUJISHIMA & AIKAWA, 1995; WEIGHT, BELL, NICHOLSON, 1996).

O excesso de superóxido é um fator importante responsável pela perda da integridade do endotélio capilar após o trauma. Isso é evidenciado pelo seqüestro de líquidos (edema) nos tecidos (RHEE *et al.*, 1998).

De acordo com relato iniciais de METCHNIKOFF, em 1887 (*apud* ANDERSON, BROWN, HARKEN, 1991), os PMN em hiperatividade estão diretamente relacionados com o processo inflamatório através da produção de radicais livres de oxigênio. Além dessas substâncias, as enzimas proteolíticas conjuntamente lesam o tecido, dando início à SRIS que constitui elemento essencial da SDMO (MARTINS, 1997; ANDERSON & VASLEF, 1999).

No aspecto clínico, a SRIS e a SDMO caracterizam-se, segundo ANDERSON & VASLEF (1999), por:

- SRIS: por dois ou mais fatores como: temperatura superior a 38°C ou menor que 36°C, frequência cardíaca superior a 90 batimentos por minuto, frequência respiratória superior a 20 incursões por minuto ou PaCO₂ abaixo de 32 mmHg e leucometria maior que 12.000/mm³ ou inferior 4.000/mm³ ou mais que 10% de formas imaturas.
- SDMO: presença de função orgânica alterada na qual a homeostase não pode ser mantida sem intervenção.

O número de PMN circulantes aumenta nas primeiras horas após o início da instalação da SDMO, mas diminui acentuadamente após seis a 12 horas, o que sugere seqüestração nos órgãos (BOTHAN *et al.*, 1995b).

No modelo experimental de ratos submetidos à lesão térmica ocorreu neutrofilia dentro de quatro horas após o estímulo (EURENIUS & BROUSE, 1973).

Na circulação sangüínea do corpo humano, os PMN estão divididos em dois grupos equivalentemente iguais que correspondem às células circulantes e às aderidas ao endotélio (BOTH A *et al.*, 1995b).

O aumento de PMN é devido à desmarginalização e à liberação imediata dessas células da reserva na medula óssea.

As catecolaminas provocam a desmarginalização dos PMN enquanto que os corticosteróides mobilizam essas células da medula óssea (BOTH A *et al.*, 1995b).

Em situações de grande estresse, como no politraumatizado grave, a medula óssea lança na corrente sangüínea em torno de 1×10^6 PMN/segundo (BOTH A *et al.*, 1995b). Portanto, as lesões no politraumatizado, associadas ao estado de CH e isquemia de órgãos, potencializam o efeito do seqüestro de PMN.

A contagem dos PMN da corrente sangüínea está inversamente correlacionada ao tempo de isquemia (GONCE *et al.*, 1995).

Estudos demonstram que a neutropenia da corrente sangüínea associa-se a um maior adesão dos PMN ao endotélio vascular, seguida de migração transendotelial para o interstício dos órgãos, onde são ativados para liberarem radicais livres de oxigênio (ERIKSSON, STRAUBE, ROBSON, 1979; BOTH A *et al.*, 1995b).

Os PMN têm papel fundamental no desencadeamento da lesão tecidual devido à I/R, pois animais neutropênicos não desenvolvem a SR.

No processo de adesão e diapedese dos PMN no endotélio tem-se como modulador os receptores que se dividem em selectinas, integrinas e superfamílias das imunoglobulinas.

A interação da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) do leito vascular com os complexos CD11/CD18 dos PMN promove a aderência desses com a célula endotelial (BARNETT *et al.*, 1995).

A inibição dos efeitos da selectina P, ICAM-1 e do complexo CD11/CD18 são recursos que reduzem ou neutralizam os danos originados da I/R tecidual (GUTE & KORTHUIS, 1995; GRANGER & KORTHUIS, 1995; PANES & GRANGER, 1998; KORTHUIS *et al.*, 1999).

Os neutrófilos seqüestram-se indiscriminadamente em tecidos normais ou lesados e, a partir desse evento, são ativados para produzirem O_2^- e, conseqüentemente, desenvolver SRIS, seguida de SDMO (VEDDER *et al.*, 1989). Dessa forma, além da injúria pela isquemia tecidual ocorrer em condições de normovolemia ou hipovolemia, a ação dos neutrófilos seqüestrados nos órgãos promove uma agressão contínua, representando a alavanca inicial da patogênese da SDMO, motivo deste estudo experimental.



3. MÉTODO

3.1. LOCAL DE REALIZAÇÃO

Este trabalho experimental foi realizado no Laboratório de Investigação em Cirurgia do Trauma (LICIT), da Disciplina de Cirurgia do Trauma do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, localizado no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.

3.2. ANIMAIS

Foram utilizados neste trabalho experimental 32 ratos machos adultos da linhagem Wistar, com pesos que variaram de 185 a 240 gramas, com idade de aproximadamente sete semanas.

Os animais, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Unicamp – Cemib-, foram mantidos em condições ambientais controladas de luminosidade e temperatura, recebendo dieta padrão do LICIT constituída de ração Nuvilab CR-1 (Nuvital Nutrientes Ltda., Paraná, Brasil) e água “ad libitum”, por um período de uma semana, para aclimação, no biotério, antes do início do experimento.

3.3. GRUPOS DE ANIMAIS ESTUDADOS

O protocolo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-Unicamp (protocolo nº 144-1).

O modelo de cada grupo foi determinado previamente segundo o projeto-piloto elaborado e desenvolvido pela Disciplina de Cirurgia do Trauma.

Foram estudados os efeitos da isquemia hepática total pela MP durante 15 minutos, em estado de hipovolemia ou normovolemia, seguida de reperfusão hepática por 60 minutos. Os animais foram randomizados e divididos em quatro grupos:

Grupo Controle: ratos em condições de normalidade, submetidos às cateterizações e laparotomia, seguido de um período de 60 minutos de observação, correspondente ao período de reperfusão nos demais grupos.

Grupo Choque: ratos submetidos a um estado de CH controlado, através de sangria, com PAM mantida em 40 mmHg por 20 minutos, seguido de reposição volêmica com solução de Ringer Lactato (RL) aquecido (39-40°C) e sangue total (3:1) até atingir a PAM de 80 mmHg, seguido de 60 minutos de reperfusão.

Grupo Pringle: ratos submetidos à MP por 15 minutos, com PAM mantida em 40 mmHg com reposição de RL aquecido (39-40°C), seguida de reperfusão de 60 minutos.

Grupo Choque-Pringle: ratos submetidos a um estado de choque hemorrágico com PAM mantida em 40 mmHg por 20 minutos, seguido imediatamente de laparotomia e MP por 15 minutos, com reposição volêmica com RL aquecido (39-40°C) e sangue total (3:1) para PAM controlada em 40 mmHg durante a manobra, seguido de 60 minutos de reperfusão.

3.4. ANESTESIA

Com base na literatura (BACELAR *et al.*, 1999) e no estudo-piloto, o no presente trabalho optou-se pela anestesia intraperitoneal com soluções de Cloridrato de (S+) Cetamina, 80mg/Kg (Ketamin®, Cristália, Itapira, São Paulo), com Cloridrato de Xilazina 2%, 10mg/Kg (Rompum®, Bayer, São Paulo, São Paulo), e atropina, 0,05mg/Kg (Halex Istar, São Paulo).

Observou-se, durante o estudo-piloto, que os animais manifestavam os primeiros efeitos das drogas dentro do segundo minuto do procedimento, atingindo o plano anestésico do estágio 3 plano 2 (BOOTH, 1982; KOHN, *et al.*, 1997) dentro de 5 minutos após aplicação da solução anestésica intraperitoneal.

Todos os animais que não apresentaram esse comportamento foram excluídos do protocolo.

O plano anestésico foi avaliado pelo estímulo doloroso na cauda, ou pela tração da língua, e pela frequência respiratória (FR).

3.5. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas na noite anterior ao experimento.

Nos procedimentos cirúrgicos foram utilizados os seguintes instrumentais: uma tesoura de Metzenbaum reta (15 cm), uma tesoura para íris 11 ½ curva, duas pinças de Halstead “mosquito” reta, duas pinças de Halstead “mosquito” curva, uma pinça anatômica 14, uma pinça de Adison com dente de rato, duas pinças anatômicas Graef de ponta curva, lâmina de bisturi nº 15, fio de algodão 4-0 sem agulha e fio de algodão 2-0 agulhado.

Após obter-se o plano anestésico foi realizada a tricotomia nas seguintes regiões: abdome anterior, cervical direita e femoral direita. Em seguida, o animal foi colocado em posição supina, sobre uma prancha de aquecimento externo elétrico, tendo os membros estendidos e fixados com fita adesiva, realizando o controle da temperatura retal entre 37-38,5°C (Fig. 1).

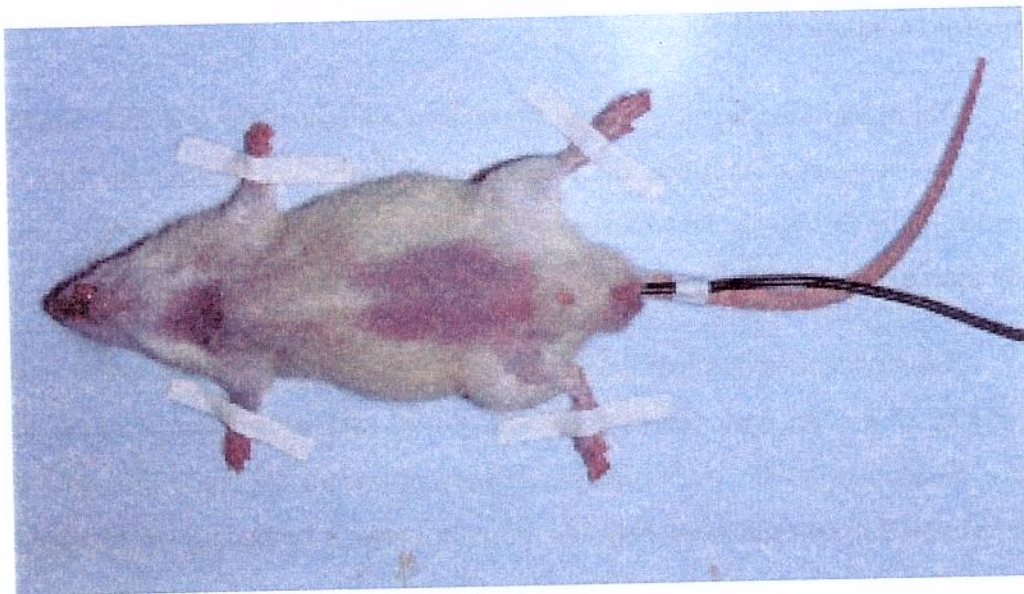


Figura 1: Animal de experimentação em prancha térmica de controle elétrico

Na região cervical direita, com técnica asséptica, realizou-se dissecação dos planos com localização e cateterização (cateter PE 50), na ordem, da veia jugular e artéria carótida direitas.

Após a cateterização da artéria carótida direita, foi administrado suplemento de oxigênio (2 litros/minutos) por uma campânula de plástico transparente, por meio da qual foi possível observar qualquer movimento do segmento cefálico durante estímulo doloroso local e o padrão dos movimentos respiratórios para avaliação do plano anestésico.

Na região femoral direita, com técnica asséptica, foi dissecada e cateterizada a artéria femoral com cateter 24G $\frac{3}{4}$ (0,7 x 19 mm) Introcan® B/BRAUN. O cateter foi fixado na pele com fio de algodão 4-0 para evitar o deslocamento do mesmo durante o experimento.

Nas extremidades distais dos cateteres foi colocada uma torneirinha de três vias. Isso permitiu uma manipulação segura das retiradas e reposições de volume, bem como a monitorização contínua da PAM.

Na região anterior do abdome foi realizada uma incisão mediana com lâmina de bisturi nº 15 na pele e abertura da parede abdominal com tesoura de Íris curva. O sangramento pelas bordas da incisão através dos vasos sangüíneos presentes foi controlado com a aplicação local de pinças Halstead “mosquito” curvas.

Na cavidade abdominal localizou-se o ligamento hepatoduodenal, que contém a Tríade Portal (Fig. 2A), que consiste na veia porta, artéria hepática e ducto biliar. No ligamento realizou-se a MP, que corresponde ao pinçamento do ligamento, com microclip vascular hemostático atraumático delicado por um período constante de 15 minutos (Fig. 2B), exceto nos animais dos Grupos Controle e Choque.

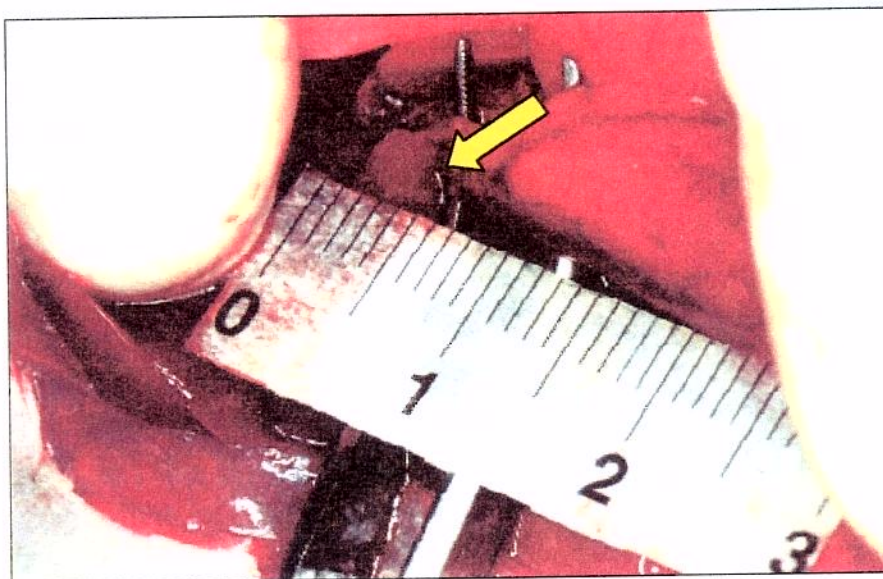


Figura 2A: Seta mostra a veia porta no ligamento hepatoduodenal

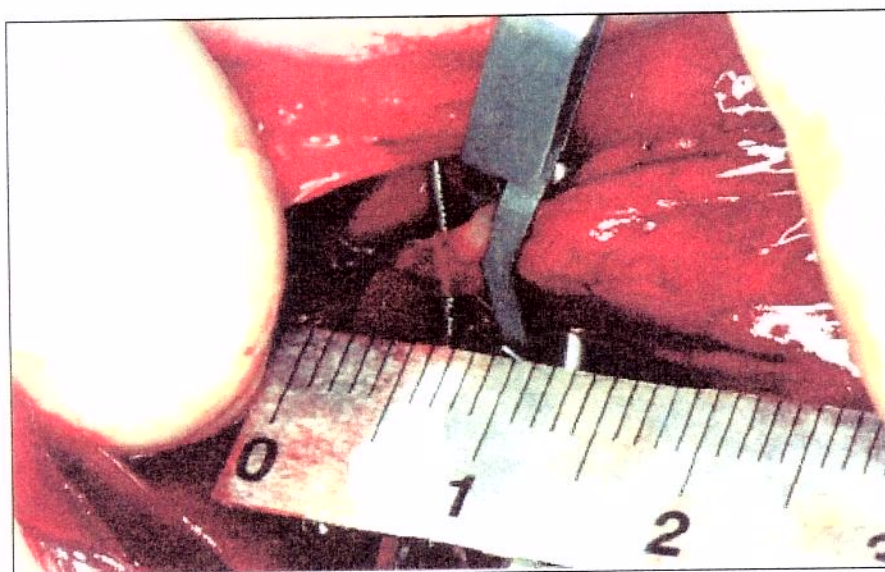


Figura 2B: Realização da Manobra de Pringle (pinçamento do pedículo hepático).

Durante a MP, a incisão da parede abdominal foi coberta com plástico estéril transparente para evitar perda de calor e líquido por evaporação devido à exposição do conteúdo abdominal ao ambiente, como também observar alterações durante o experimento.

Após o período de isquemia, foi realizada a reperfusão hepática por 60 minutos.

3.6. INSTALAÇÃO DO CHOQUE HEMORRÁGICO, REPOSIÇÃO VOLÊMICA E PAM

Por intermédio da artéria carótida direita foram realizadas retiradas de sangue em intervalos de dois minutos para o estabelecimento do estado de CH controlado.

A volemia estimada do rato corresponde a 5,4ml/100g de peso.

A quantidade de sangue de cada retirada inicialmente correspondeu a 5% da volemia total estimada do animal até atingir um PAM de 60 mmHg, ponto a partir do qual se passou para 2,5% da volemia total para cada retirada até obter PAM de 40 mmHg.

Pela veia jugular direita foram realizadas reposições volêmicas de solução de RL e sangue total.

A PAM foi monitorizada ininterruptamente por meio da artéria femoral direita.

3.7. MONITORIZAÇÃO, CONTROLES E AMOSTRAS

Em cada fase do experimento de todos os grupos foram monitorizadas as seguintes variáveis através do Polígrafo Mingograf 807 (Siemens-Elema, Alemanha): PAM, FC, eletrocardiograma (ECG) e temperatura retal (TR).

As amostras de sangue para gasometria, dosagem do lactato e dosagem de eletrólitos foram obtidas pela artéria carótida direita durante o processo de instalação do CH controlado e em cada fase do experimento.

Para cada retirada de amostra de sangue, sem o intuito de estabelecer um estado de choque, foi reposto soro fisiológico pela veia jugular direita no mesmo volume.

3.8. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Todos os animais, após o período de reperusão hepática de 60 minutos, foram sacrificados por exsangüinação pela artéria carótida direita.

3.9. RETIRADA DOS ÓRGÃOS

A parede anterior do tórax foi removida por intermédio de secção cirúrgica das costelas, bilateralmente, na porção lateral e na junção esternoclavicular.

Foram ocluídas com pinças de Halsted curvas a veia cava inferior e a aorta descendente logo acima do diafragma.

Realizou-se uma punção com Abbocath® nº 16 no ventrículo direito e uma incisão no ventrículo esquerdo. Através da punção injetou-se cuidadosamente 20 ml de soro fisiológico, o qual percorria os vasos da pequena circulação, notando-se nitidamente a limpeza do leito vascular pulmonar, com saída do excesso pela cardiomiectomia no ventrículo esquerdo.

Em seguida, o coração e os pulmões foram retirados em monoblocos sendo colocados em formalina à 10% para estudos futuros.

Mantendo a aorta ocluída e a veia cava inferior liberada, injetou-se 40 ml de soro fisiológico cuidadosamente pela artéria femoral direita, realizando-se a limpeza do leito vascular dos órgãos abdominais.

Foram retirados e fixados em formalina os seguintes órgãos abdominais: baço, rim direito, supra-renal esquerda, lobo hepático direito, pâncreas, segmento do íleo terminal, segmento do sigmóide. Também foram retirados o olho esquerdo, testículo direito e o cérebro.

No rim direito, após a fixação em formalina à 10%, a metade da porção do pólo superior foi enviada para embebição em parafina, da qual foram realizados cortes de cinco micra de espessura e corados através da técnica de Hematoxilina e Eosina (HE) para contagem dos neutrófilos.

3.10. CONTAGEM DE NEUTRÓFILOS NO RIM À MICROSCOPIA ÓPTICA

Foi realizada contagem de PMN no rim na região do córtex, no interstício. Foram examinados dez campos utilizando objetiva 100 e ocular de 10, determinando o número médio/campo.

Os campos examinados obedeceram a seguinte regra: examinava-se um campo e saltavam-se dois campos correspondentes iguais para que se examinasse o próximo, seqüencialmente (Fig. 3).

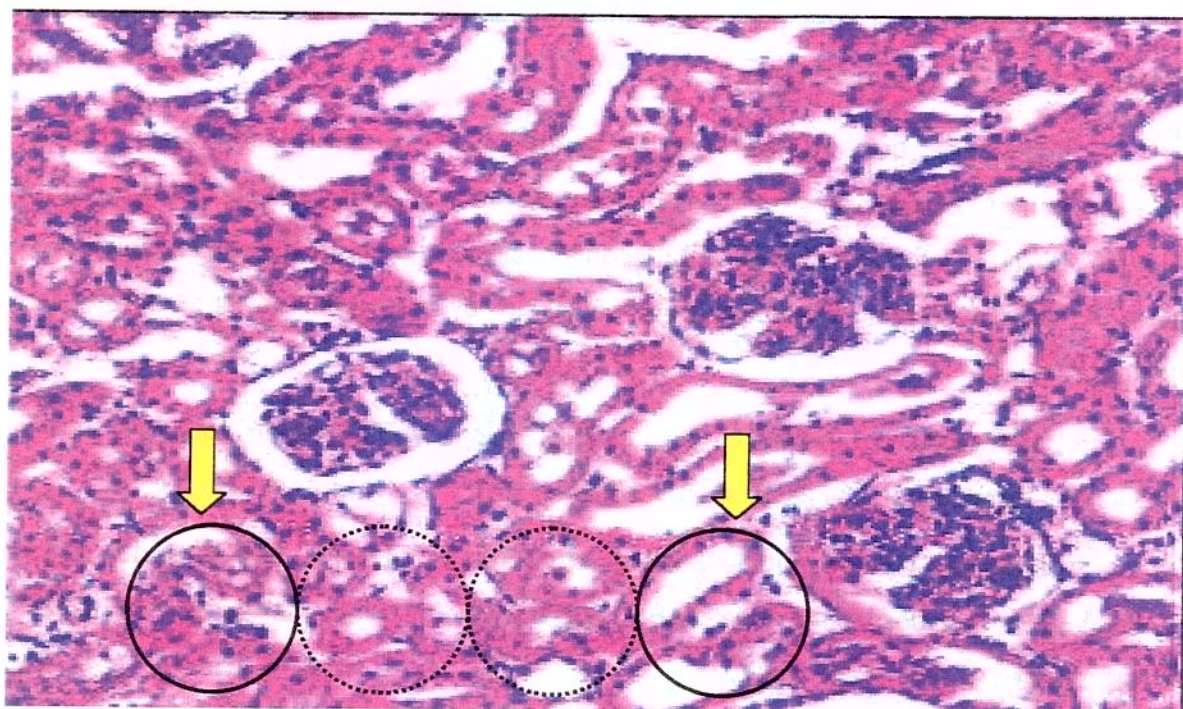


Figura 3: As setas indicam os campos examinados, conforme a seqüência demonstrada.

3.11. DOSAGEM DO LACTATO SANGÜÍNEO

O lactato foi determinado pela utilização de teste BM-Lactate® (Roche), que consiste em tiras testes para determinação quantitativa do lactato utilizando o fotômetro de reflexão pela reação colorimétrica do mediador lactato-oxidase.

3.12. DETERMINAÇÃO DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BÁSICO, ELETRÓLITOS, HEMATÓCRITO E HEMOGLOBINA

As determinações sangüíneas do pH, DB, $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$, HCO_3^- , potássio, sódio, Ht e Hb foram realizadas no aparelho de gasometria da Instrumental Laboratory.

3.13. MÉTODO ESTATÍSTICO

A seleção dos animais para cada um dos quatro grupos do experimento obedeceu ao método de randomização, que foi utilizado para assegurar que cada animal tivesse uma probabilidade igual ao ser colocado em cada um dos grupos de estudos.

Neste trabalho, foi utilizado o método de alocação sistemática, pois isso garantiu que os grupos fossem do mesmo tamanho.

Os resultados foram comparados e a significância estatística foi avaliada por meio da Análise de Variância (Anova de um critério – Teste F).

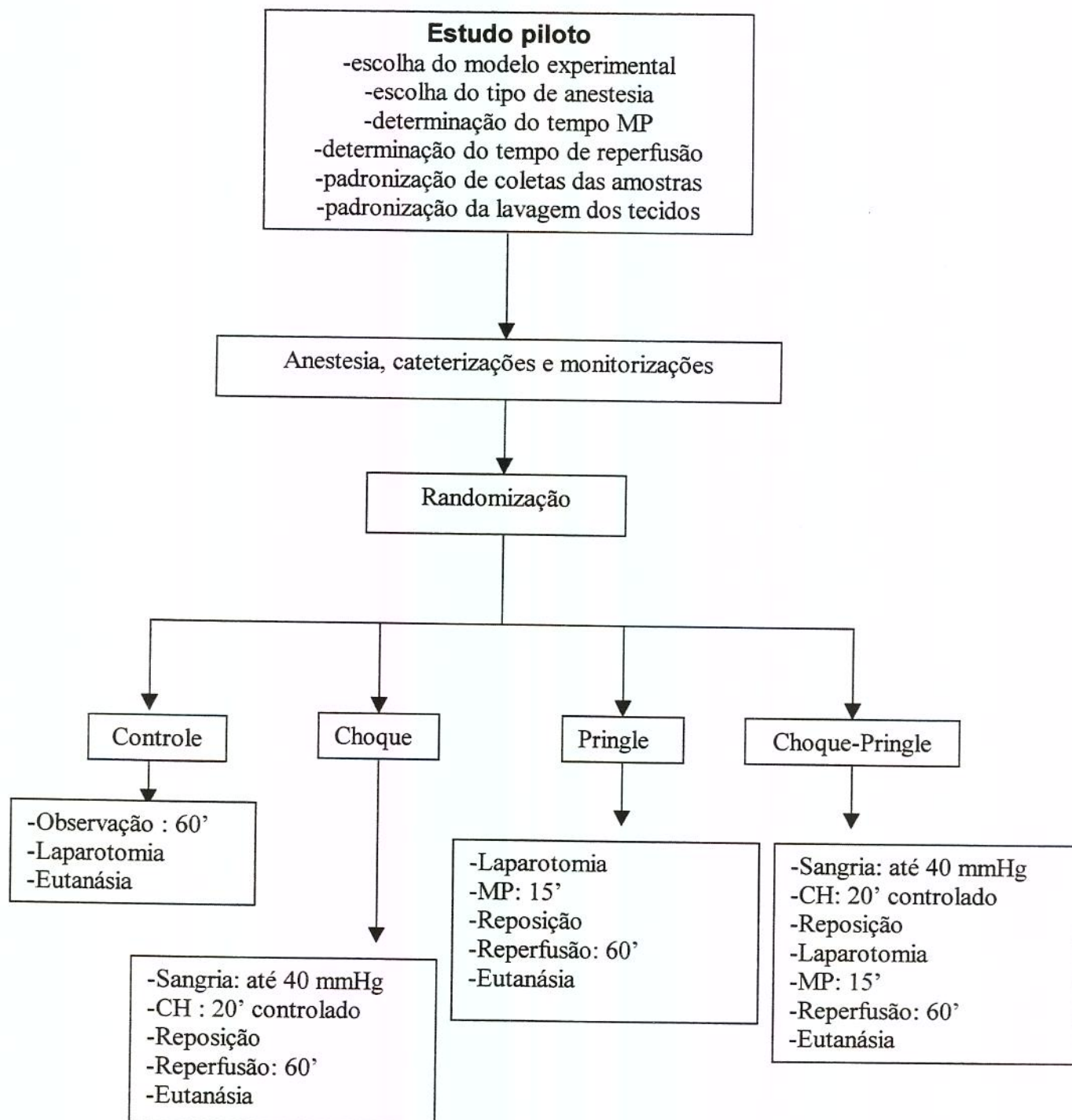
Para avaliar os resultados em função dos fatores grupos e tempo foi utilizada a Análise de Variância com medidas repetidas.

Com base na significância de cada efeito foi avaliada a diferença entre os grupos ou entre os tempos. Quando a interação foi significativa, realizou-se o teste de comparação (Teste de Tukey) entre as médias de um fator para cada nível do outro fator.

Foi utilizado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) e os valores foram representados sob a forma de média $\pm$ desvio padrão da média.

O fluxo 1 sintetiza todo o desenvolvimento do estudo experimental realizado.

ORGANOGRAMA 1
DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO EXPERIMENTAL





4. RESULTADOS

4.1. ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Conforme já descrito, utilizou-se neste experimento um total de 32 ratos machos, da linhagem Wistar, divididos em quatro grupos de oito animais, com idade aproximada de sete semanas. Todos apresentaram boa evolução clínica durante o período de aclimação no biotério, com boa aceitação de alimentação e água.

A seleção dos animais para cada um dos quatro grupos do experimento obedeceu ao método de randomização, que foi utilizado para assegurar que cada animal tivesse uma probabilidade igual de ser colocado em cada um dos grupos de estudos.

4.1.1. Peso

Neste estudo, os grupos não apresentaram diferenças significativas. O peso médio±desvio-padrão de cada grupo está representado na tabela 3

Tabela 3: Peso dos animais conforme o grupo estudado

Grupo	Controle	Choque	Pringle	Choque-Pringle
<i>Média (g)</i>	201,25	216,25	216,87	216,25
<i>Desvio Padrão</i>	12,74	27,35	16,88	22,79
<i>N</i>	8	8	8	8

(Anova: $p=0,258$)

4.1.2. Variáveis

As variáveis verificadas no início do experimento segundo o protocolo estabelecido incluíram PAM, FR, FC, dosagem do lactato sanguíneo, eletrólitos, hematócrito (Ht) e gasometria arterial. Em todos os animais esses parâmetros encontraram-se dentro dos limites da normalidade. Exceto para os valores da pressão parcial do dióxido de carbono no sangue arterial (pCO_2), não houve diferenças significativas entre os grupos estudados, demonstrando que todos os animais foram retirados da mesma população. Os valores da média e desvio-padrão, para cada grupo estudado, estão representados na tabela 4.

Tabela 4: Valores da média e desvio-padrão iniciais das variáveis

Grupo Variável	Controle	Choque	Pringle	Choque-Pringle	P*
<i>PAM (mmHg)</i>	118,75±17,91	126,75±17,46	136,50±14,88	128,25±19,16	0,265
<i>FR (mov./min.)</i>	60,25±8,58	58,00±4,78	63,50±16,48	63,50±6,90	0,648
<i>FC (bpm)</i>	310,50±28,27	292,50±40,02	307,50±15,62	312,00±19,24	0,478
PH	7,329±0,062	7,257±0,059	7,311±0,049	7,295±0,033	0,059
<i>PCO₂ (mmHg)</i>	49,15±6,52	57,67±9,50	48,48±3,00	52,66±5,45	0,035
<i>PO₂ (mmHg)</i>	208,25±118,62	240,37±68,62	161,75±92,68	222,00±99,11	0,421
<i>HCO₃⁻ (mmol/l)</i>	27,25±3,98	25,37±2,23	24,81±1,75	25,57±1,30	0,269
<i>DB (mmol/l)</i>	0,02±2,18	-2,23±1,90	-1,46±2,37	-1,00±1,15	0,161
<i>Na⁺ (mEq/l)</i>	136,00±8,01	132,14±4,14	129,37±8,95	133,62±10,33	0,444
<i>K⁺ (mEq/l)</i>	4,92±0,59	4,30±0,74	4,93±0,58	4,60±0,72	0,201
<i>Lactato (mmol/l)</i>	0,92±0,12	0,95±0,19	0,91±0,20	0,85±0,14	0,678
<i>Hematócrito</i>	42,37±3,20	43,12±6,08	42,25±3,32	43,27±2,23	0,523

*Análise de Variância (Anova)

4.2. MANOBRA DE PRINGLE NO RATO

Antes da realização da MP as alças intestinais não apresentavam estase venosa (Fig. 4A). Porém, nos primeiros minutos após a MP observou-se intensa congestão venosa no leito esplâncnico (Fig. 4B), caracterizada pela dilatação venosa e cianose nos órgãos como baço e intestino delgado.



Figura 4A: Aspecto das alças intestinais antes da MP.

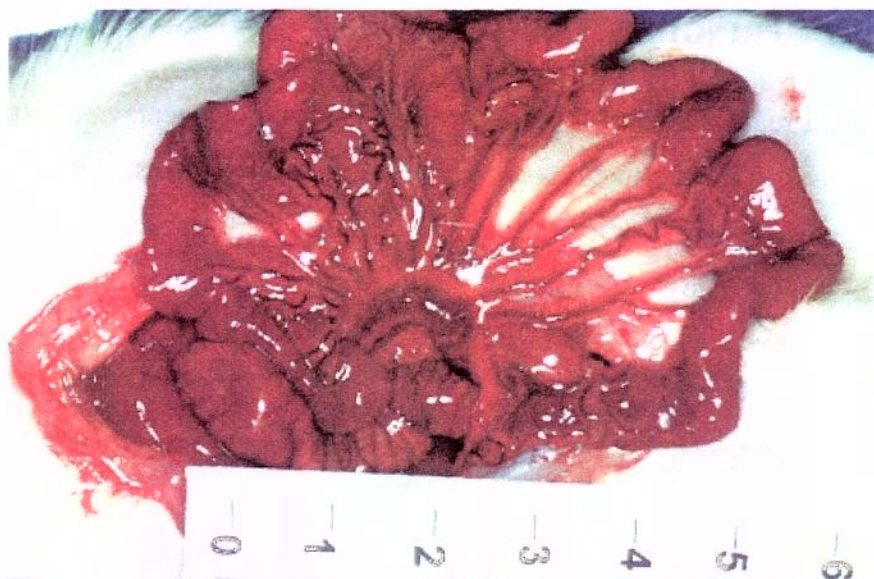


Figura 4B: Aspecto das alças intestinais nos primeiros minutos após a MP. Observa-se intensa congestão venosa.

4.3. MONITORIZAÇÃO DOS SINAIS VITAIS

No final de cada fase e no tempo preconizado, conforme o protocolo, de cada grupo as medidas da PAM, FR e FC foram obtidas para avaliar a evolução hemodinâmica e o plano anestésico dos animais. Os valores encontrados foram considerados para posterior comparação.

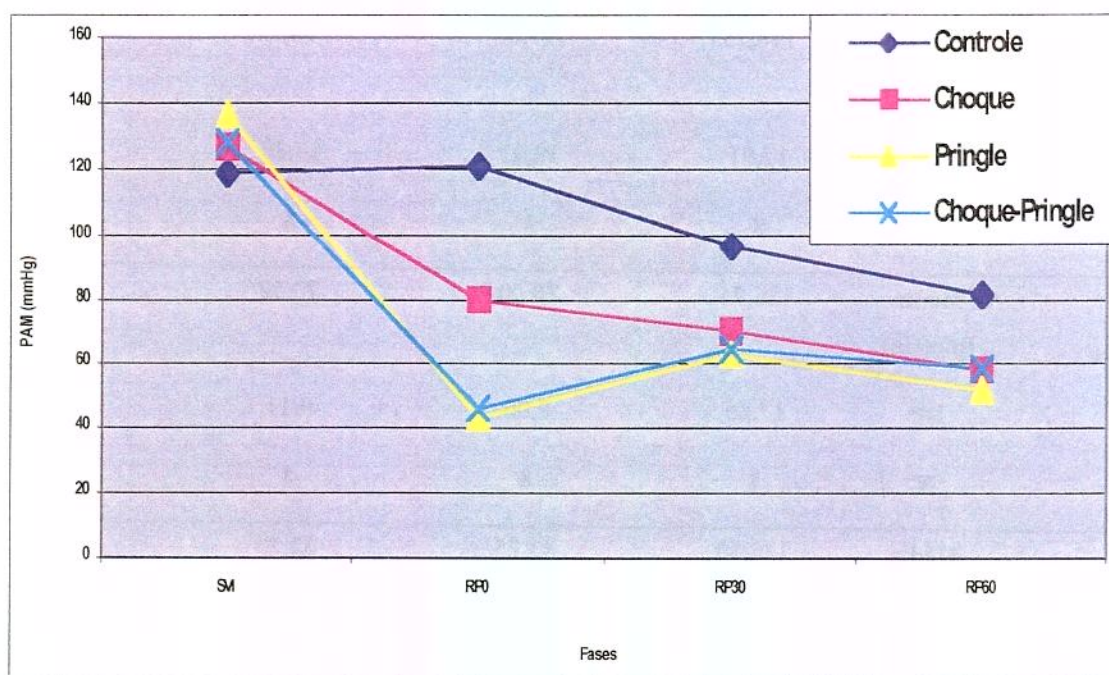
A tabela 5 mostra os valores médios da PAM em cada um dos grupos estudados. Como os valores da PAM foram previamente padronizados no estado de choque (40 mmHg) e na de reposição (80 mmHg), nos grupos Choque e Choque-Pringle, a análise estatística dessa variável foi feita nas seguintes fases dos diferentes grupos: sinais vitais iniciais (SVI), início da reperfusão (RP0), reperfusão de 30 minutos (RP30) e reperfusão de 60 minutos (RP60).

Tabela 5: Valores médios da PAM em cada fase do experimento conforme o grupo estudado

Grupo		SVI	RP0	RP30	RP60
<i>Controle</i>	Média (mmHg)	118,75	121,00	96,5	81,25
	DP	17,91	19,91	14,80	12,73
	N	8	8	8	8
<i>Choque</i>	Média (mmHg)	126,75	80,00	70,50	57,75
	DP	17,46	0,00	9,11	22,05
	N	8	8	8	8
<i>Pringle</i>	Média (mmHg)	136,50	43,25	62,75	51,71
	DP	14,88	3,01	12,46	23,76
	N	8	8	8	7
<i>Choque- Pringlel</i>	Média (mmHg)	128,25	46,00	64,57	58,33
	DP	19,16	3,46	10,56	16,65
	N	8	7	7	6
<i>P*</i>		0,265	0,000	0,000	0,030
SVI – Sinais vitais iniciais		RP0 – Início da reperfusão	RP30 – Reperfusão 30 min.	RP60 – Reperfusão 60 min.	

*Análise de Variância (Anova).

O Graf. 1 ilustra, mais detalhadamente, a média dos valores da PAM nos diferentes grupos, ao longo de todo o experimento.



Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min.

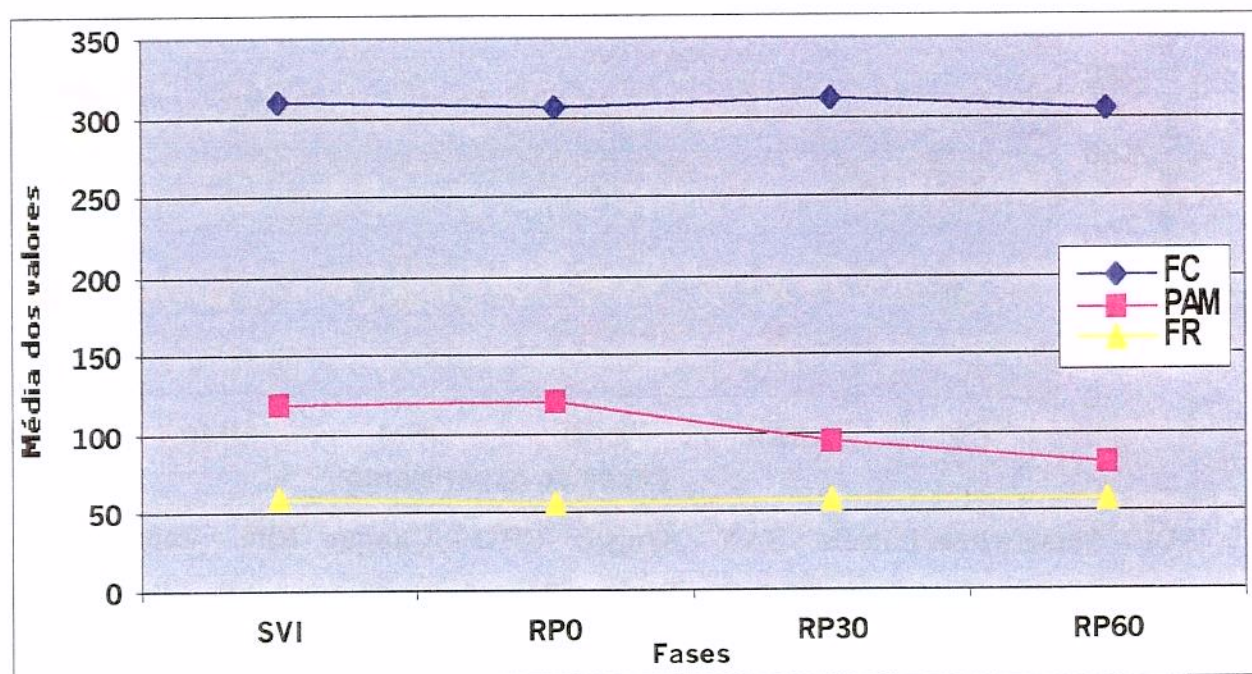
Gráfico 1: Valores da PAM em cada fase do experimento conforme o grupo estudado

Na comparação entre os valores da PAM no SVI não foi verificada qualquer diferença significativa entre os diferentes grupos ($p=0,265$), estando todos equiparados quanto a essa variável hemodinâmica.

Na fase inicial da RP0, todos os grupos apresentavam PAM significativamente diferentes ($p<0,0001$), exceto entre os grupos Pringle e Choque-Pringle ($p=0,123$), que evoluíram com valores muito próximos ($43,25\pm3,01\text{mmHg}$ e $46,00\pm3,46\text{mmHg}$) e bem abaixo dos demais grupos.

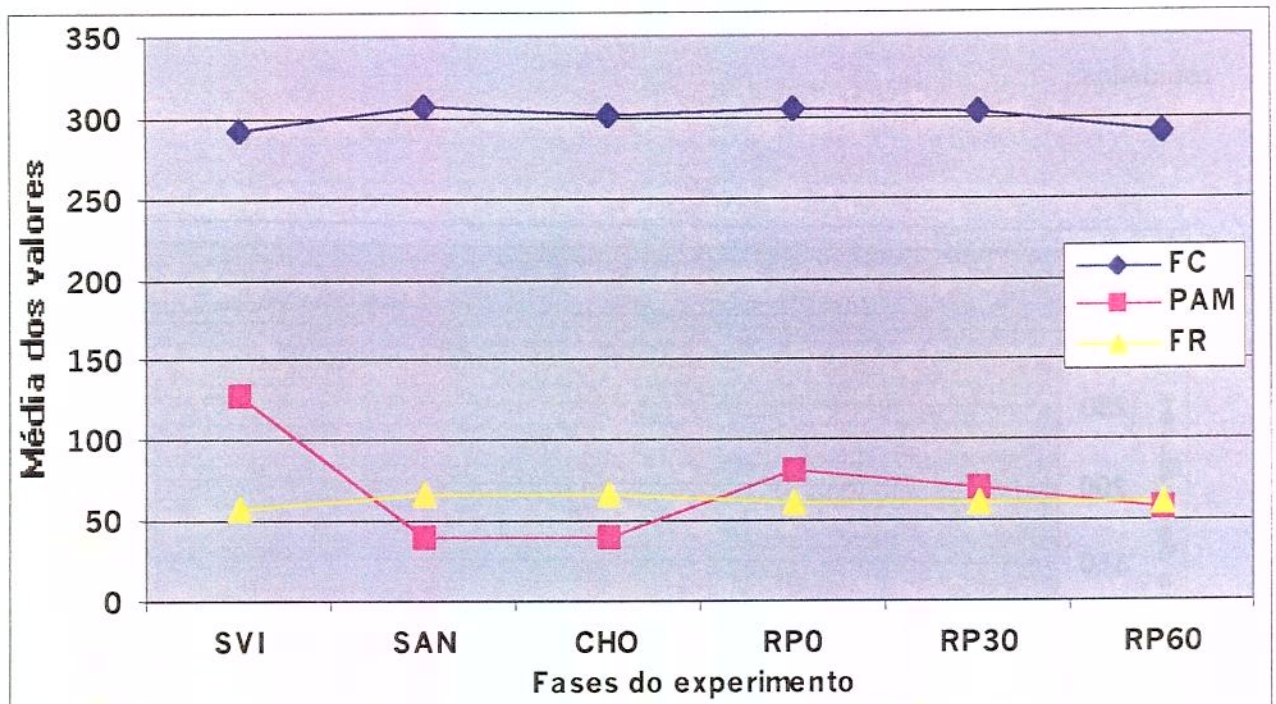
O grupo Controle na RP30 ($96,5\pm14,8\text{mmHg}$) e RP 60 ($81,25\pm12,73\text{mmHg}$) apresentaram diferença significativa em comparação aos demais grupos.

Os Grafs. 2 a 5 ilustram as variações da PAM quando relacionada às demais variáveis (FR e FC) consideradas na avaliação hemodinâmica, nos diferentes grupos estudados.



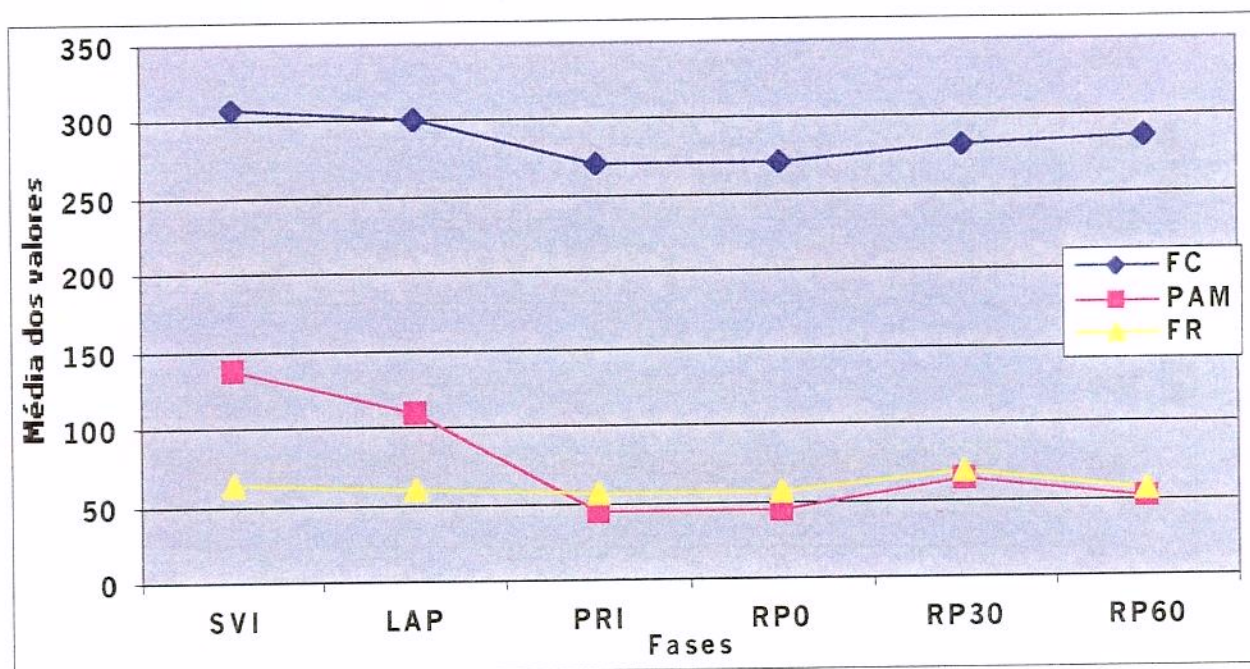
SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min. FC – Frequência Cardíaca (bpm) PAM – Pressão Arterial Média (mmHg) FR – Frequência Respiratória (mov. resp./min).

Gráfico 2: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Controle



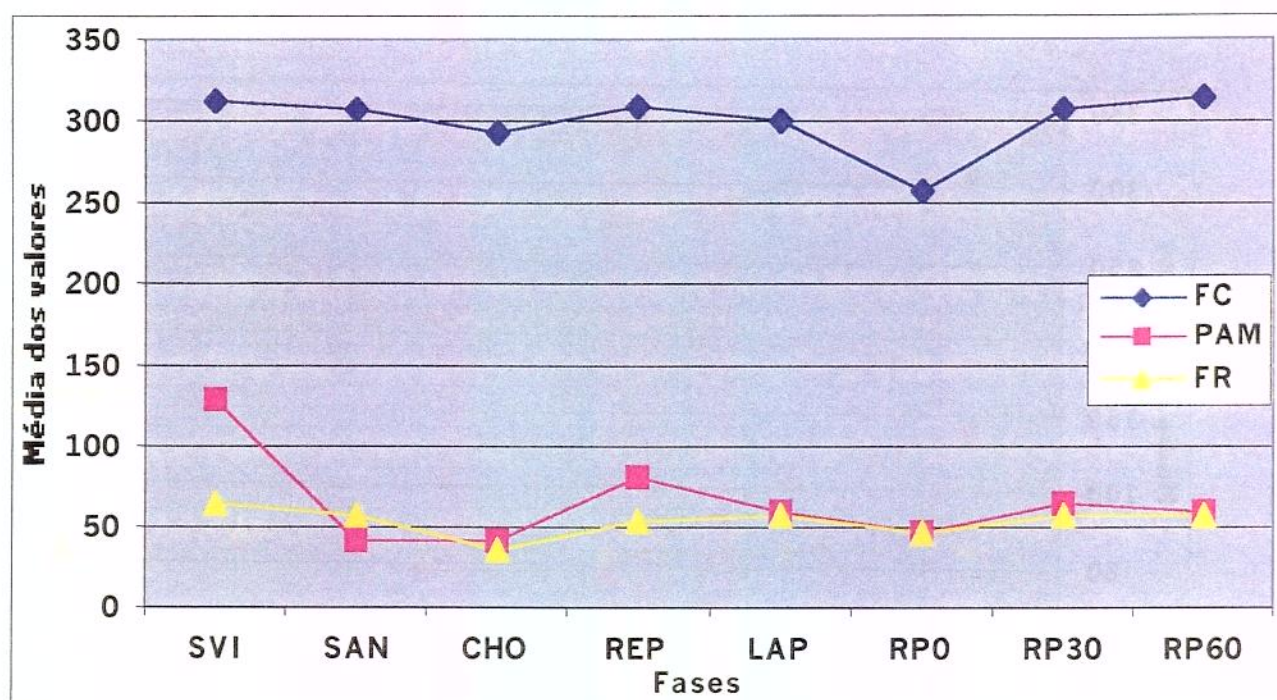
SVI – Sinais vitais iniciais SAN – Sangria CHO – Choque RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min. FC – Frequência Cardíaca (bpm) PAM – Pressão Arterial Média (mmHg) FR – Frequência Respiratória (mov. resp./min.)

Gráfico 3: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Choque



SVI – Sinais vitais iniciais LAP – Laparotomia PRI – Pringle RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min. FC – Frequência Cardíaca (bpm) PAM – Pressão Arterial Média (mmHg) FR – Frequência Respiratória (mov./min.).

Gráfico 4: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Pringle



SVI – Sinais vitais iniciais SAN – Sangria CHO – Choque REP – Reposição LAP – Laparotomia RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min. FC – Frequência Cardíaca (bpm) PAM – Pressão Arterial Média (mmHg) FR – Frequência Respiratória (mov./min.).

Gráfico 5: Evolução das variáveis hemodinâmicas no grupo Choque-Pringle

4.4. ALTERAÇÕES METABÓLICAS

As variáveis relacionadas ao estado de choque hemorrágico com baixa perfusão tecidual, em cada grupo, incluíram as medidas do pH, DB e dosagem do lactato sanguíneo, todas colhidas em amostras de sangue arterial conforme o cronograma de coletas estabelecido pelo protocolo do experimento.

4.4.1. Valores do pH

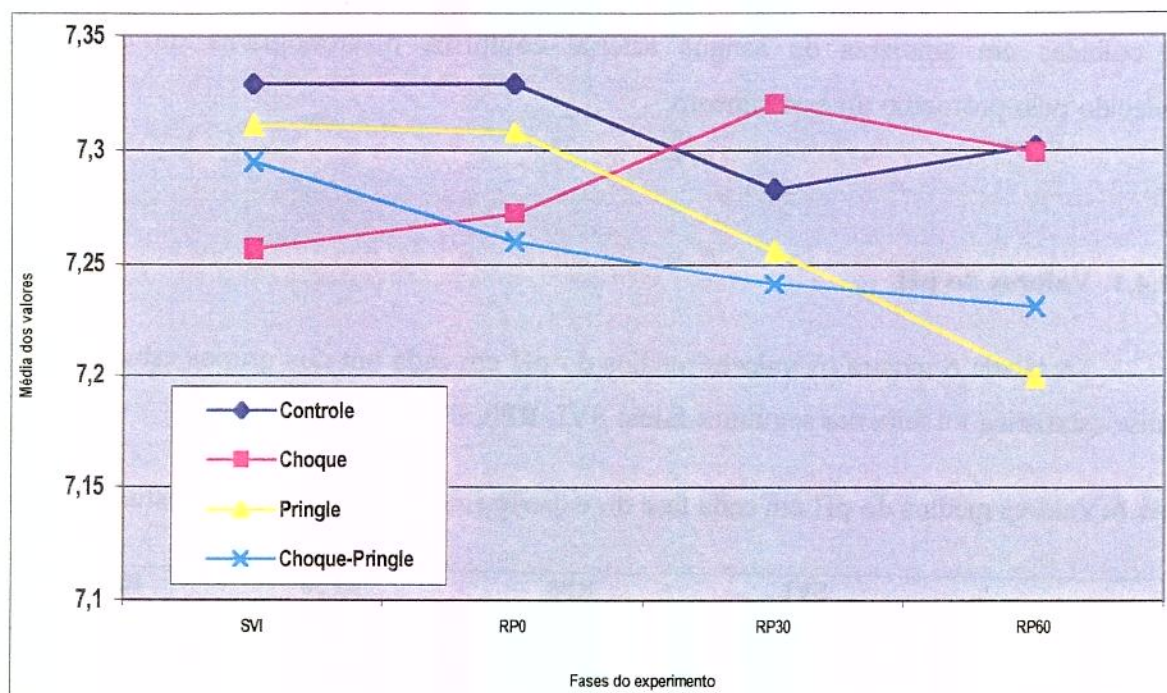
A tabela 6 mostra os valores médios do pH em cada um dos grupos estudados. A análise estatística foi feita nas seguintes fases: SVI, RP0, RP30 e RP60.

Tabela 6: Valores médios do pH em cada fase do experimento conforme o grupo estudado

Grupo		SVI	RP0	RP30	RP60
<i>Controle</i>	Média	7,329	7,329	7,280	7,302
	DP	0,062	0,062	0,090	0,075
	N	8	8	8	8
<i>Choque</i>	Média	7,257	7,272	7,320	7,299
	DP	0,059	0,043	0,049	0,077
	N	8	8	8	8
<i>Pringle</i>	Média	7,311	7,308	7,256	7,199
	DP	0,049	0,084	0,098	0,126
	N	8	8	8	7
<i>Choque-Pringle</i>	Média	7,295	7,260	7,241	7,231
	DP	0,033	0,031	0,022	0,082
	N	8	7	7	6
<i>p*</i>		0,059	0,110	0,187	0,104

SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Início da reperfusão RP30 – Reperfusão 30 min. RP60 – Reperfusão 60 min.*Análise de Variância (Anova).

O Graf. 6 ilustra, mais detalhadamente, a média dos valores do pH nos diversos grupos, ao longo de todo o experimento.



SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min.

Gráfico 6: Valores médios do pH em cada fase do experimento conforme o grupo estudado

No SVI não foi verificada qualquer diferença estatisticamente significativa entre os diversos grupos ($p=0,059$). Nas demais fases, no decorrer de todo o experimento, também não foram verificadas diferenças. Porém, a partir da fase inicial, os animais do grupo Choque-Pringle foram os únicos que apresentaram sempre valores decrescentes do pH.

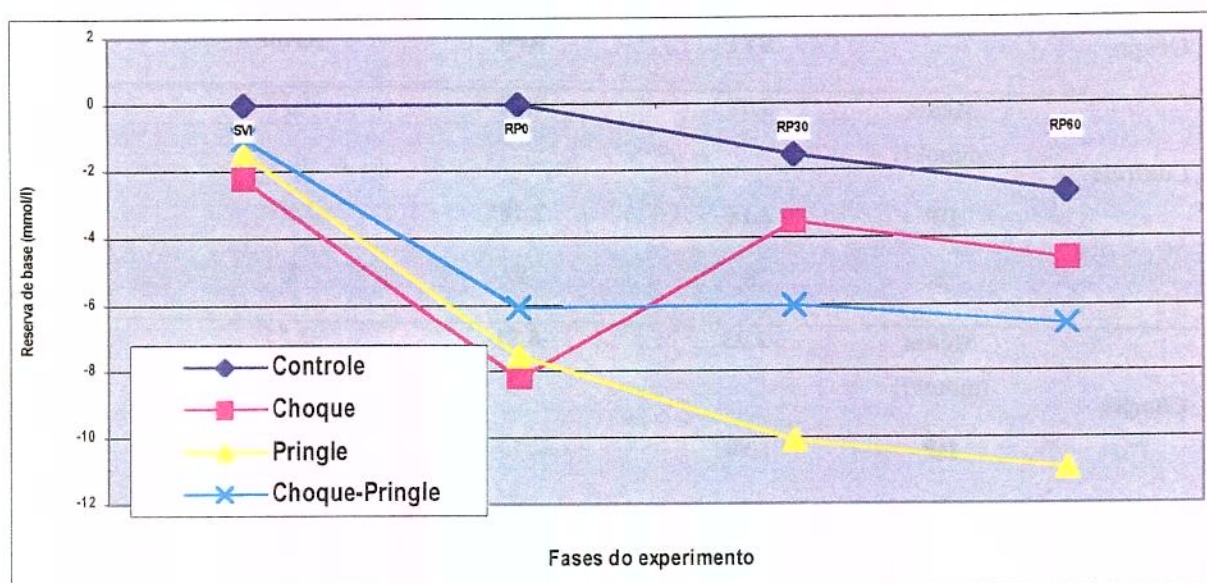
4.4.2. Valores da diferença de base

A tabela 7 mostra os valores médios da DB em cada um dos grupos estudados. A análise estatística foi feita nas seguintes fases: SVI, RP0, RP30 e RP60.

Tabela 7: Valores médios da DB em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.

Grupo		SVI	RP0	RP30	RP60
<i>Controle</i>	Média (mmol/l)	0,02	0,02	-1,52	-2,63
	DP	2,18	2,18	1,93	2,38
	N	8	8	8	8
<i>Choque</i>	Média (mmol/l)	-2,23	-8,21	-3,55	-4,66
	DP	1,90	2,13	1,85	2,81
	N	8	8	8	8
<i>Pringle</i>	Média (mmol/l)	-1,46	-7,52	-10,07	-10,94
	DP	2,37	3,01	1,70	3,50
	N	8	8	8	7
<i>Choque-Pringle</i>	Média (mmol/l)	-1,00	-6,04	-5,98	-6,56
	DP	1,15	1,79	1,93	3,19
	N	8	7	7	6
<i>p*</i>		0.161	0,000	0,000	0,000
SVI – Sinais vitais iniciais		RP0 – Início da reperfusão	RP30 – Reperfusão 30 min.	RP60 – Reperfusão 60 min.* Análise de Variância (ANOVA).	

O Graf. 7 ilustra, mais detalhadamente, a média dos valores da diferença de base, nos diversos grupos, ao longo de todo o experimento.



**SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min.
RP60 – Reperusão 60 min.**

Gráfico 7: Valores médios da DB em cada fase do experimento conforme o grupo estudado

A análise mostrou que no SVI os valores da diferença de base não apresentaram valores estatisticamente diferentes entre si ($p=0,161$).

Na RP0, apenas o grupo Controle, com valor dentro dos limites de normalidade (0,02 mmol/l), diferiu dos demais grupos ($p<0,0001$), os quais, apresentavam valores abaixo desse limite (Choque = -8,21mmol/l, Pringle = -7,52mmol/l, Choque-Pringle = -6,04mmol/l).

Aos 30 minutos de reperusão, os valores dessa variável foram significativamente diferentes entre todos os grupos ($p<0,0001$). Nessa fase, apenas os animais do grupo Choque apresentaram um retorno da DB próximo à normalidade (BE = -3,55mmol/l).

No RP60, apenas o grupo Pringle apresentou valor estatisticamente diferente dos demais ($p<0,001$). Nesse grupo, essa variável encontrava-se bem abaixo do limite mínimo de normalidade (DB= -10,94mmol/l).

4.4.3. Valores do lactato sangüíneo

A tabela 8 mostra os valores médios do lactato sangüíneo em cada um dos grupos estudados. A análise estatística foi feita nas seguintes fases: SVI, RP0, RP30 e RP60.

Tabela 8: Valores médios do lactato sangüíneo em cada fase do experimento conforme o grupo estudado.

Grupo		SVI	RP0	RP30	RP60
<i>Controle</i>	Média (mmol/l)	0,92	0,92	1,05	0,95
	DP	0,12	0,12	0,23	0,15
	N	8	8	8	8
<i>Choque</i>	Média (mmol/l)	0,95	4,16	1,68	3,58
	DP	0,19	1,30	0,77	2,76
	N	8	8	8	8
<i>Pringle</i>	Média (mmol/l)	0,91	3,58	3,13	6,55
	DP	0,20	0,67	0,32	4,98
	N	8	8	8	7
<i>Choque- Pringle</i>	Média (mmol/l)	0,85	4,15	2,90	3,03
	DP	0,14	0,57	0,69	1,01
	N	8	7	7	6
<i>P*</i>		0.678	0.000	0.000	0.009
SVI – Sinais vitais iniciais		RP0 – Início da reperfusão		RP30 – Reperfusão 30 min.	RP60 – Reperfusão 60 min.

- Análise de Variância (Anova)

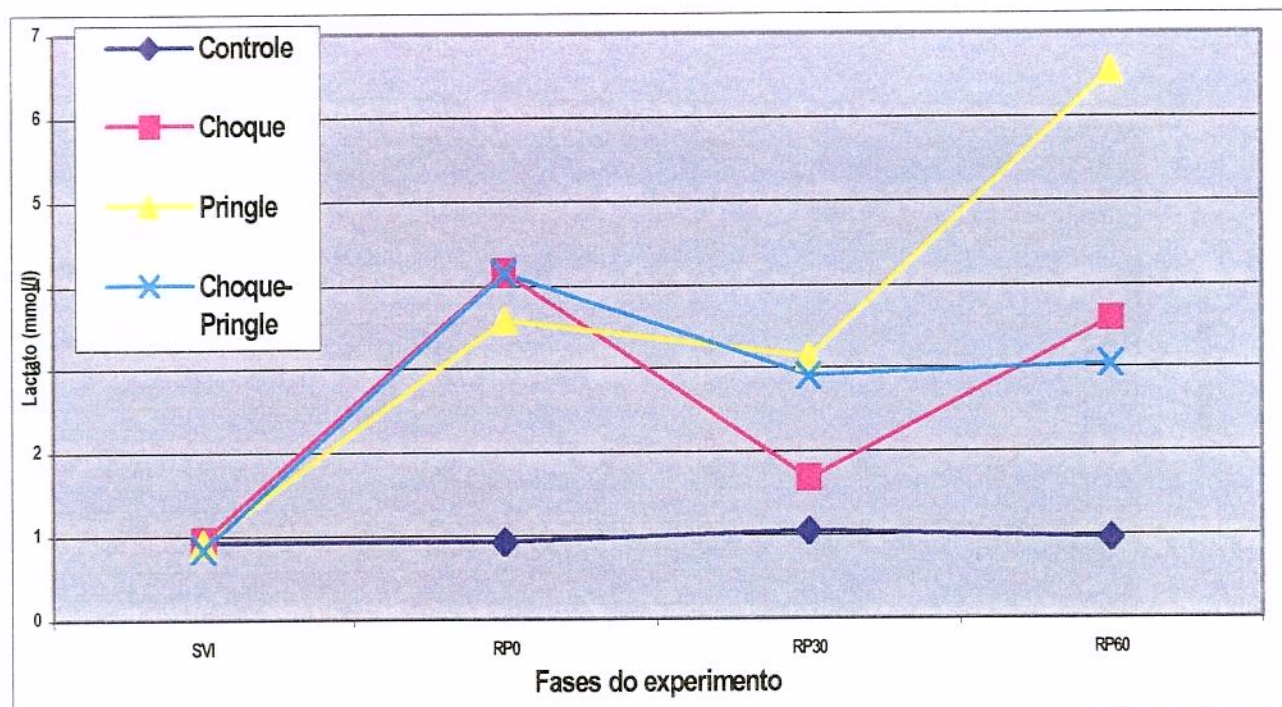
A análise estatística mostrou que no SVI os grupos não diferiram entre si quanto aos valores relativos às dosagens do lactato sanguíneo ($p=0,678$), com todos os valores dentro dos limites de normalidade.

Na RP0, apenas o grupo Controle, com 0.92mmol/l, apresentou diferença estatística dos demais ($p<0,0001$), os quais apresentaram valores bem acima dos limites de normalidade (Choque = 4,16mmol/l, Pringle = 3,58mmol/l, Choque-Pringle = 4,15mmol/l).

Na RP30, a análise mostrou que todos os grupos, com exceção dos grupos Pringle e Choque-Pringle, diferiram significativamente entre si ($p<0,0001$). Entre todos, o grupo Pringle foi o que apresentou menor redução do valor desta variável no sentido da normalidade, permanecendo sempre elevado ao longo de todo o período de reperfusão

Na RP60, apenas o grupo Controle mostrou diferença significativa com os demais grupos estudados ($p=0,009$) que, como já visto, apresentou níveis de lactato sanguíneo dentro dos limites da normalidade durante todo o experimento.

O Graf. 8 ilustra, mais detalhadamente, a média dos valores do lactato sangüíneo, nos diversos grupos, ao longo de todo o experimento.

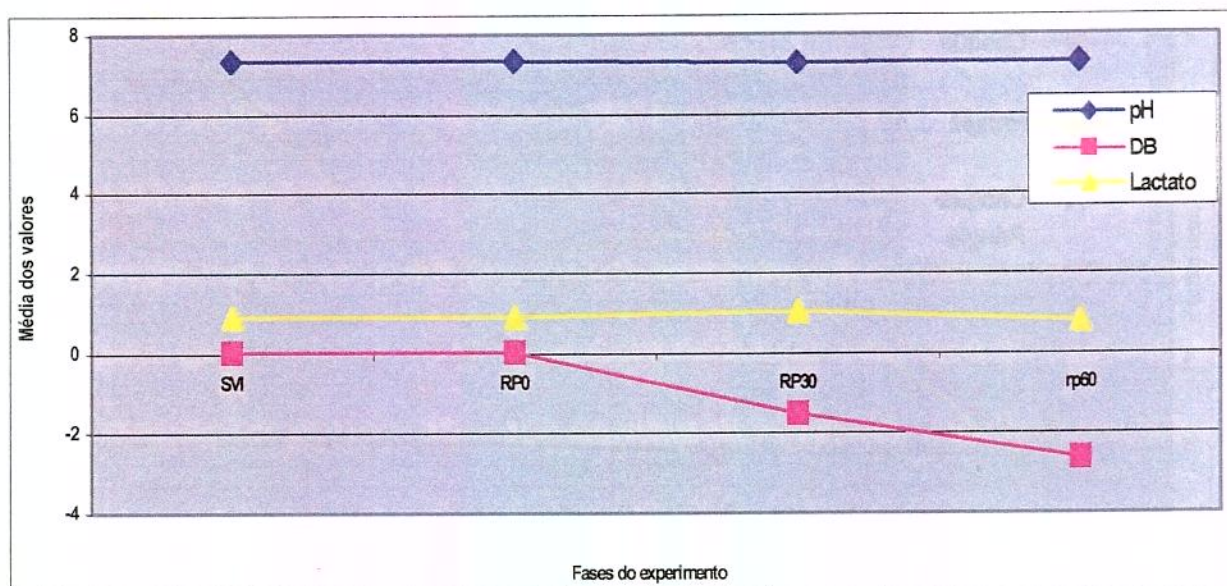


SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min.
RP60 – Reperusão 60 min.

Gráfico 8: Valores médios do lactato sangüíneo em cada fase do experimento conforme o grupo estudado

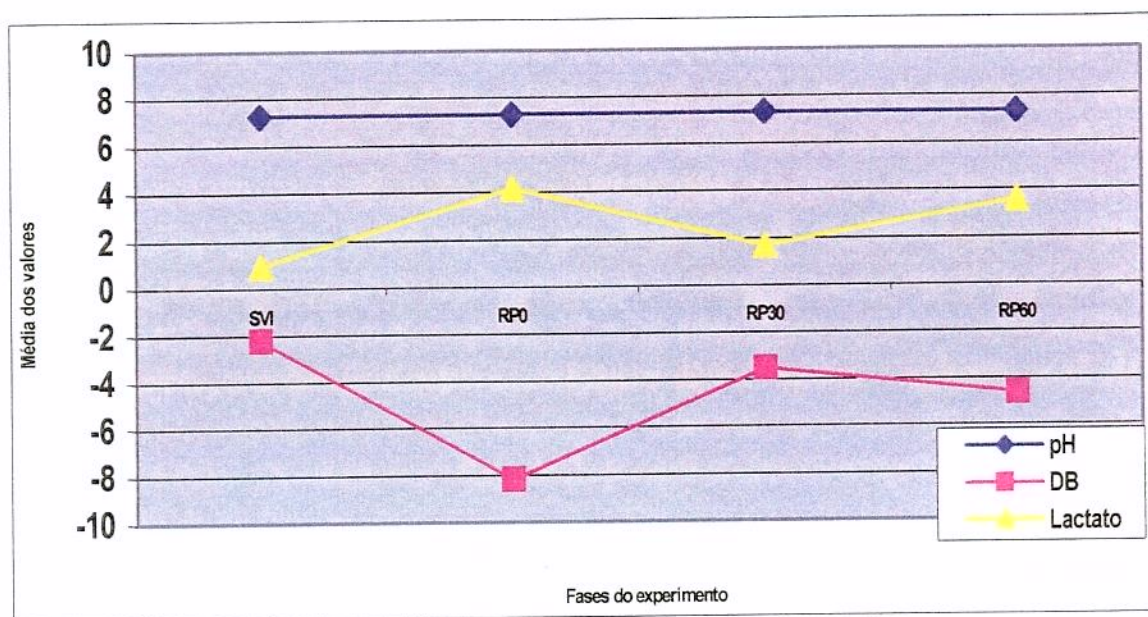
4.4.4. Evolução das variáveis metabólicas

Os Gráfs. 9 a 12 ilustram as variações do pH quando relacionado às demais variáveis (DB e lactato sérico) consideradas na avaliação metabólica, nos diferentes grupos estudados.



SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min. DB -(mmol/l) Lactato (mmol/l).

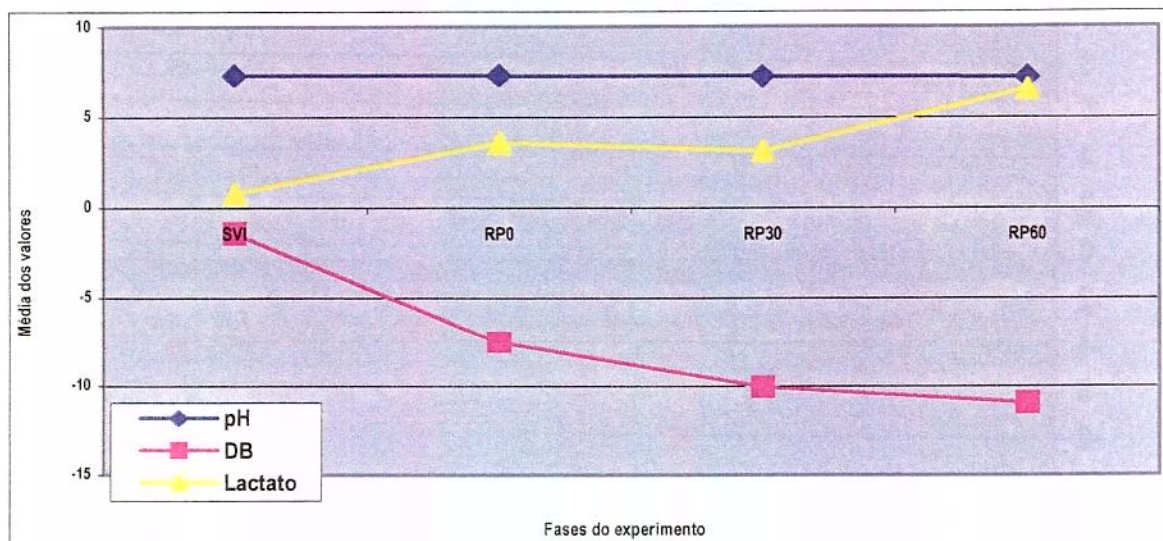
Gráfico 9: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Controle



SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min.
RP60 – Reperusão 60 min. DB – (mmol/l) Lactato (mmol/l).

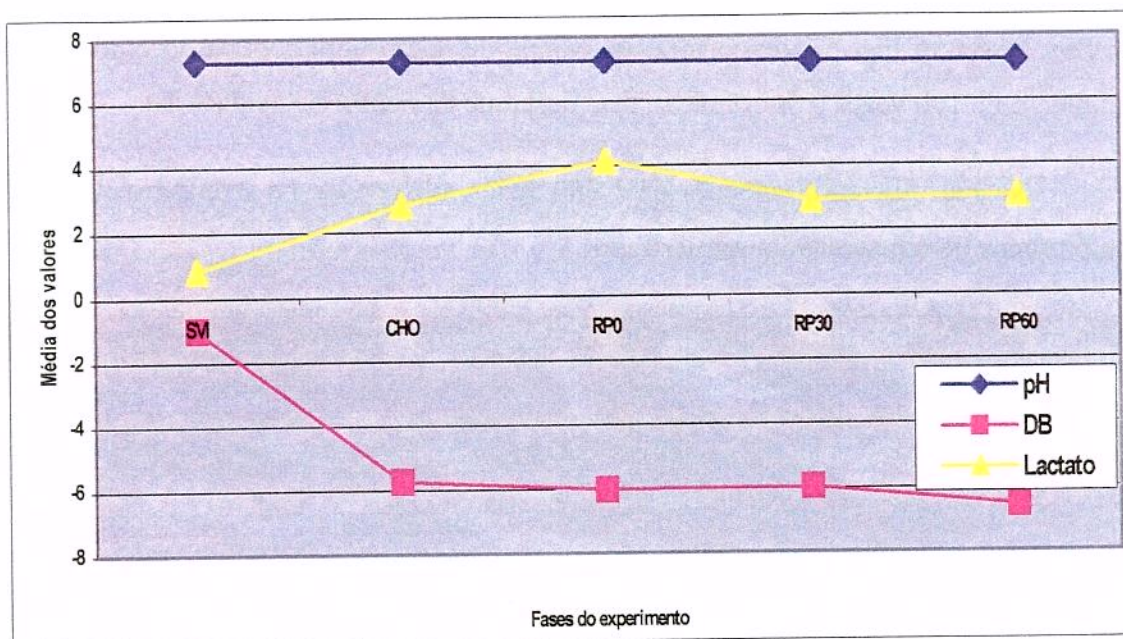
Gráfico 10: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Choque

Neste gráfico, observa-se a imagem em ‘espelho’ formada pelo conjunto de traçados das variáveis lactato sanguíneo e da DB.



SVI – Sinais vitais iniciais RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min.
RP60 – Reperusão 60 min. DB – (mmol/l) Lactato (mmol/l).

Gráfico11: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Pringle



SVI – Sinais vitais iniciais CHO – Choque RP0 – Reperusão 0 min. RP30 – Reperusão 30 min. RP60 – Reperusão 60 min. DB -(mmol/l) Lactato (mmol/l).

Gráfico 12: Evolução das variáveis metabólicas no grupo Choque-Pringle

4.5. SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM

Nas condições de CH, MP e CH/MP há diferentes valores de acúmulo de neutrófilos. Assim, a Fig. 5A demonstra um campo de microscopia óptica do córtex renal, com aumento de 100 vezes (panorâmica), sem destaque de neutrófilo seqüestrado.

Na Fig. 5B, com aumento de 1.000 vezes, observa-se no interstício do córtex renal a presença de um neutrófilo seqüestrado.

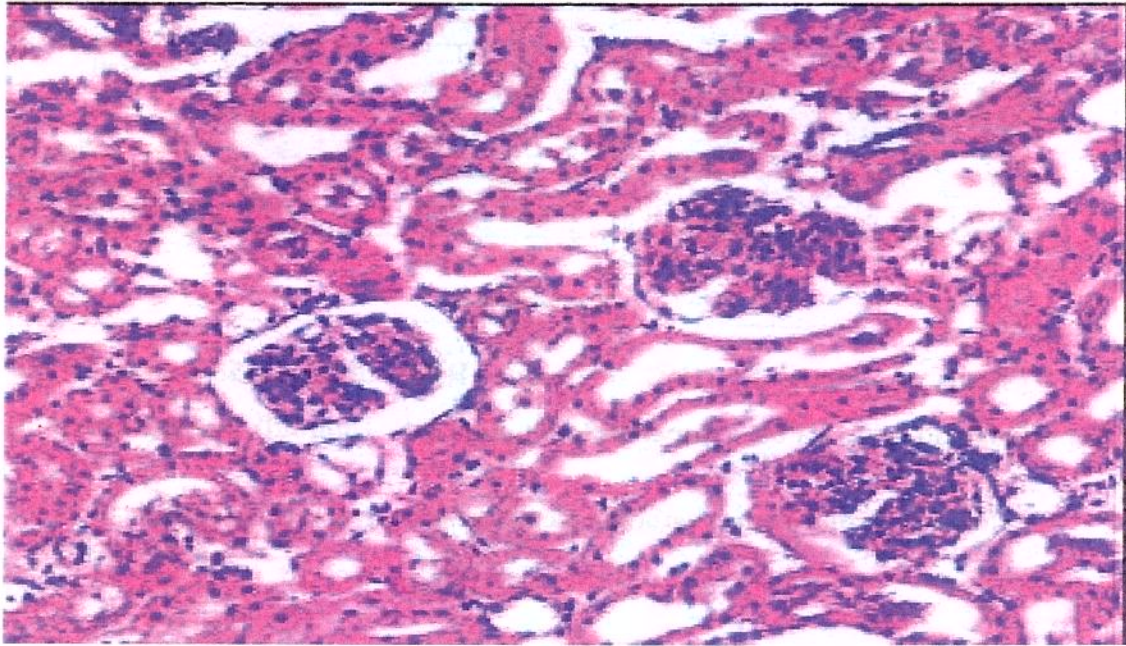


Figura 5A: Microscopia óptica do córtex renal (HE 100x).

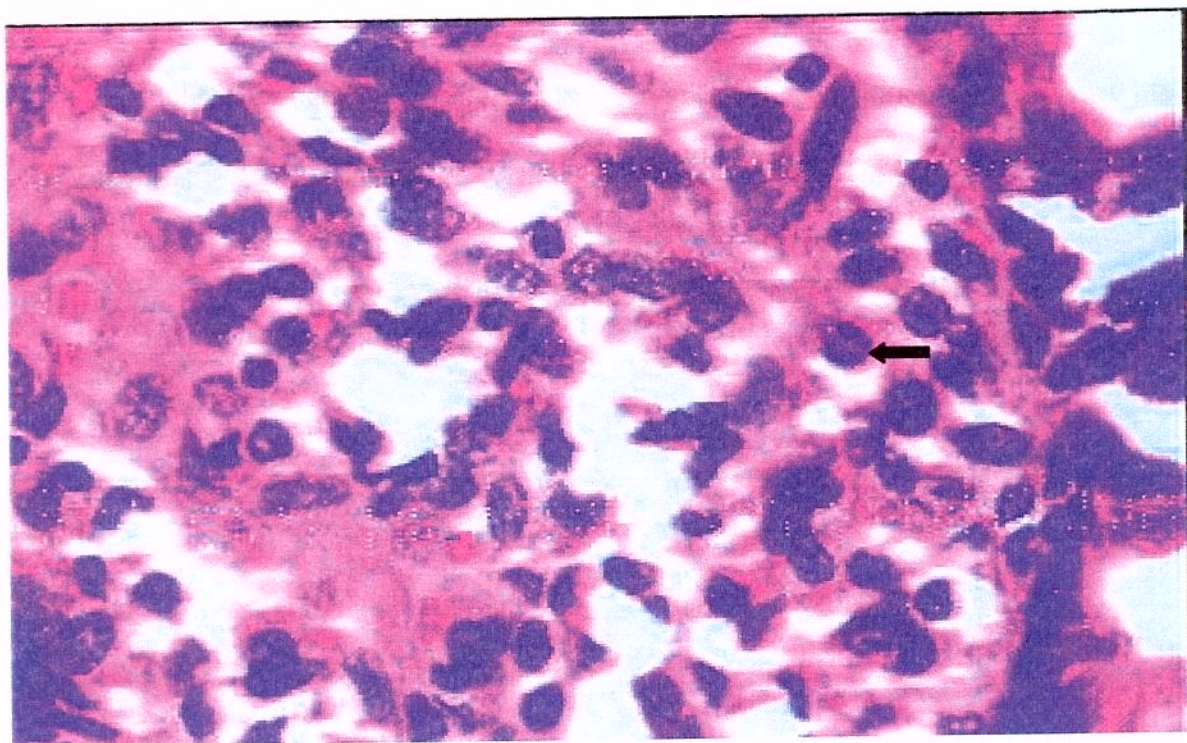


Figura 5B: Presença de um neutrófilo (seta), no córtex renal (HE 1000x).

O número de neutrófilos por campo, presente no córtex renal, em cada grupo, após 60 minutos de reperfusão, está representado na tabela 9.

Tabela 9: Número de neutrófilos, por campo, no rim, conforme o grupo estudado

Grupo	Controle	Choque	Pringle	Choque-Pringle
PMN/Campo				
Média	0,24	<i>1,06</i>	0,18	0,24
DP	0,28	<i>0,61</i>	0,16	0,19
N	8	8	7	6
Anova: $p < 0,001$				

O Graf. 13 ilustra, mais detalhadamente, a média dos valores do acúmulo de neutrófilos, por campo, no córtex do rim, após 60 minutos de reperfusão, nos diferentes grupos estudados.

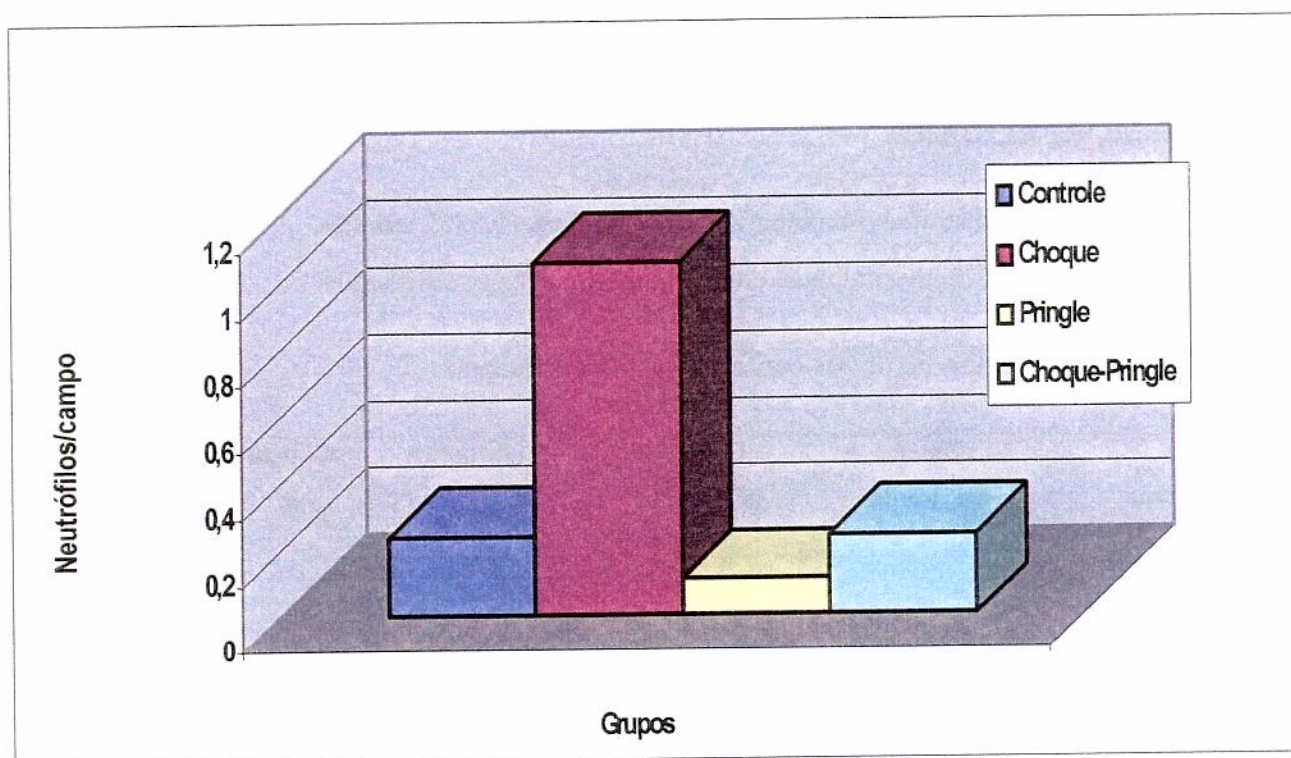


Gráfico 13: Valores relativos ao acúmulo de neutrófilos/campo, no córtex renal, conforme o grupo estudado

A análise de comparação múltipla mostrou que, após o período RP60, ocorreu diferença estatisticamente significativa quanto aos valores relativos às contagens de neutrófilos por campo nos diferentes grupos estudados ($p < 0,001$). Na análise de comparação dois a dois, verifica-se que apenas o grupo Choque apresentou diferença significativa quando comparado aos demais, os quais, não diferiram entre si.

4.6. MORTALIDADE

Durante o experimento morreram três (9,3%) animais. A tabela 10 mostra o número de óbito, desses animais, em cada um dos grupos estudados.

Tabela 10: Número de óbitos conforme o grupo estudado

Grupo	Controle		Choque		Pringle		Choque-Pringle		Total
	n.º	%	n.º	%	n.º	%	n.º	%	
Óbito									
Sim	0,0	0,0	0,0	0,0	01	12,5	02	25,0	03
Não	08	100,0	08	100,0	07	87,5	06	75,0	29
Total	08		08		08		08		32

χ^2 : $p = 0,25$

A análise estatística não mostrou diferença significativa no número de mortes por grupo e, no caso das mortes ($n=2$) no grupo Choque-Pringle, uma delas ocorreu durante a fase de isquemia hepática, mostrando, dessa maneira, que das três mortes ocorridas na presente pesquisa, duas ocorreram durante a MP.



5. DISCUSSÃO

5.1. ESTUDO PILOTO

O estudo-piloto do presente trabalho foi conduzido dentro da metodologia de uma linha de pesquisa da Disciplina de Cirurgia do Trauma da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas que se baseia nos princípios de má perfusão tecidual, tendo como modelo experimental a I/R hepática, que, associada ou não ao estado de choque hemorrágico, além das alterações locais, pode provocar efeitos em outros órgãos.

A avaliação do seqüestro de neutrófilos no rim, um desses efeitos, dentro deste modelo experimental de I/R hepática foi o objetivo do presente trabalho. Portanto, antes de estabelecer um protocolo de estudo, foi realizada uma revisão de literatura relacionada ao tema, fato que originou o estudo-piloto, em que foram utilizados em torno de 60 animais, num período de 14 meses, sendo abordados e avaliados diversos fatores, tais como:

- 1) escolha do tipo de animal;
- 2) idade e peso adequados do animal para o experimento;
- 3) estudo da anatomia do animal nas áreas de interesse;
- 4) escolha dos acessos vasculares;
- 5) escolha do tipo da droga anestésica;
- 6) via de administração dos agentes anestésicos;
- 7) parâmetros de controle do nível anestésico;
- 8) definição dos tempos para reavaliação do plano anestésico;
- 9) estabelecimento do CH e controle da PAM;
- 10) escolha da solução e da forma de reposição volêmica;
- 11) determinação dos tempos do CH, MP e reperfusão;

- 12) determinação dos tempos para coletas e dosagens;
- 13) método de lavagem do leito vascular da pequena circulação;
- 14) método de lavagem do leito vascular dos órgãos intra-abdominais;
- 15) adestramento nos procedimentos cirúrgicos no animal;
- 16) curva de aprendizado relacionada aos procedimentos de cateterizações.

Diante das avaliações dos fatores acima, a padronização do protocolo do presente trabalho foi definida. A escolha do tipo animal foi fundamentada pela revisão de literatura (BOIN, SILVA JR, LEONARDI, 1998; TORRES *et al.*, 1999).

As opções de acessos vasculares, mediante os princípios da linha de pesquisa e das técnicas de cirurgia experimental, tiveram as seguintes considerações:

- a) A veia jugular direita foi exclusivamente cateterizada para reposição volêmica, evitando o efeito de contrafluxo por acesso arterial;
- b) Mediante a manipulação constante do animal e dos acessos vasculares, foi optado pela artéria femoral direita para monitorização da PAM, evitando, portanto, a interrupção da observação do traçado durante a retirada ou reposição de volume, proporcionando um melhor controle dos procedimentos;
- c) A artéria carótida direita foi cateterizada exclusivamente para realização da sangria para indução do CH e coletas de amostras.

A forma de estabelecimento do CH foi realizada com retiradas de 5% da volemia estimada até PAM de 60 mmHg com intervalo de 2 minutos entre cada sangria. A partir desse ponto, as retiradas foram de 2,5% da volemia estimada até PAM de 40 mmHg. Essa padronização teve como objetivo simular uma lesão hemorrágica, tendo em vista que conforme a perda volêmica e a queda da PAM diminui o fluxo de sangramento pela lesão.

As drogas anestésicas, as vias de administração e as doses foram determinadas para obtenção adequada do plano anestésico para os procedimentos cirúrgicos.

Na literatura há vários estudos sobre as diversas soluções para reposição volêmica. Entretanto, nos serviços de urgência e emergência a solução habitualmente utilizada na prática clínica é o RL, motivo pelo qual foi padronizada a utilização dessa solução no protocolo.

O tempo de aplicação da MP, diante da necessidade de uma taxa de mortalidade baixa e de um procedimento eficaz, baseado em dados da literatura, foi padronizado em 15 minutos. Os resultados obtidos no estudo-piloto não foram utilizados como dados no presente trabalho.

5.2. ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

RAFFUCCI (1953) utilizando cães em modelo experimental demonstrou que suportavam em média 20 minutos de MP. Este resultado foi padronizado como norma, na época, em procedimentos em seres humanos.

Entretanto, posteriormente, foi demonstrado que os cães não possuíam uma circulação colateral adequada como mecanismo compensatório durante a MP (JOHNSTONE, 1957), fato que não ocorre no homem.

Os ratos suportam melhor que o cão o modelo experimental de isquemia e reperfusão hepática devido à rede venosa colateral. Os ratos de laboratórios atualmente são muitos utilizados em pesquisas como testes biológicos e psicológicos. O seu baixo consumo alimentar torna-os econômicos aos laboratórios (TORRES *et al.*, 1999).

Por serem animais de pequeno porte é possível avaliar o resultado de quantidades mínimas do material em experiência, o que não é possível em animais de maior porte.

Os ratos não possuem vesícula biliar. Há três ductos biliares originados do fígado que terminam diretamente no duodeno.

Os melhores resultados de pesquisa são obtidos a partir de lotes de ratos com tamanho uniforme e que são produzidos em “colônias fechadas”.

O sistema porta-hepático, a anatomia e fisiologia do sistema gastro-intestinal do rato são semelhantes ao do ser humano (BOIN, SILVA, LEONARDI, 1998), considerações que permitem idealizar modelos experimentais que envolvam esses segmentos anatômicos.

Estudo anterior (KOGURE & SUZUKI, 1992) demonstra a curva de sobrevivência desse animal quando submetido à MP. Quando se realizava um período de isquemia hepática de 15 minutos havia 95% de sobreviventes e 91% quando se submetia a 30 minutos. Esses resultados demonstram que o rato é um animal adequado para este modelo experimental, e, por isso, o mais utilizado para estudo da isquemia e reperfusão hepática.

5.3. MODELO EXPERIMENTAL DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA

Os modelos experimentais de isquemia e reperfusão hepática em ratos baseiam-se em isquemia parcial, total, parcial intermitente e total intermitente.

Estudos anteriores não estabeleceram um tempo de permanência fixo adequado para MP, tempo este que, se em excesso, pode levar a alterações estruturais e funcionais do parênquima hepático.

O fígado humano habitualmente tolera, sob normotermia, um período de isquemia acima de 20 minutos (HUGUET, NORDLINGER, BLOCH, 1978; PACHTER, SPENCER, HOFFSTETTER, 1983; DELVA *et al.*, 1989; PACHTER *et al.*, 1992).

PACHTER *et al.* (1992), relatam, em estudo clínico, vítimas de traumatismo hepático grave (graus IV-VI) que foram submetidos à MP com tempo médio de 32 minutos (10 a 75 minutos) sem que houvesse lesão do órgão por isquemia. Há outros relatos na literatura que variaram de 25 minutos (KOMATSU *et al.*, 1992) a 180 minutos (RODRIGUES *et al.*, 1991).

Logo após a MP verificou-se uma hipotensão arterial e congestão venosa do leito esplâncnico, alterações descritas na literatura (AKAGI & AKAGI, 1992; GONCE *et al.*, 1995; HIRANO, MORANDIN, MANTOVANI, 1999).

Conforme estudos anteriores que demonstraram a sobrevida de 50% a 91% em ratos submetidos somente à MP por 30 minutos, sem “shunt”, e relatos clínicos relevantes ao tema, estabeleceu-se, após estudo-piloto, o período de 15 minutos de isquemia hepática associada ao estado de normovolemia e hipovolemia.

Com base na revisão de literatura e diante das peculiaridades de cada estudo experimental descrito e do estudo-piloto, neste estudo foi utilizado o modelo de isquemia total, sem “shunt”, associado ao CH, situações críticas em que os se assemelham às vítimas de traumatismos hepáticos graves submetidos a procedimentos cirúrgicos.

5.4. PERÍODO DE REPERFUSÃO HEPÁTICA

O período de reperfusão preconizado conforme a literatura é tópico de discussão, assim como ocorre na determinação do tempo ideal da MP.

COLLETI *et al.* (1990) utilizaram um tempo de reperfusão de 0 minutos e em outro estudo, foi de 21 dias (NAUTA *et al.*, 1990).

O tempo de reperfusão utilizado de 60 minutos neste trabalho foi determinado diante da necessidade de se estabelecer uma correlação com as alterações que poderiam ser encontradas após a MP associadas ao estado de normovolemia e hipovolemia.

5.5. ANESTESIA

A escolha adequada da droga e a via de administração para procedimento anestésico são fatores importantes que podem influenciar nas interpretações, por exemplo, de variáveis hemodinâmicas durante o ato cirúrgico no decorrer de um modelo experimental.

No estudo-piloto, foram avaliados alguns tipos de drogas, como também a via de administração (inalatória ou endovenosa).

Conforme a literatura (WOOD, 1990; OSLOM *et al.*, 1993; FLECKNELL, 1996; BACELAR *et al.*, 1999; LO *et al.*, 1999; KÜÇUKAYDIN *et al.*, 2000; WARD, *et al.*, 2000) e o estudo-piloto, na escolha dos agentes anestésicos adequados para o protocolo do presente experimento foi selecionada a associação de Cetamina/Xilazina/atropina por inoculação intraperitoneal.

5.6. LACTATO SANGÜÍNEO E DIFERENÇA DE BASE NO CHOQUE

Estudos na literatura relatam que os parâmetros clínicos como pressão arterial, PVC e FC são freqüentemente utilizados para avaliar o estado de choque. Porém, estes índices podem sofrer alterações devido à resposta compensatória e às medicações administradas (DAVIS, 1994; SHAH *et al.*, 1998).

A normalização da PVC após um período de choque pode levar um estado de hipervolemia (McNAMARA *et al.*, 1983).

Quando os tecidos estão em condições de má perfusão, as células, para manterem um nível adequado de energia para o seu metabolismo, entram no ciclo anaeróbico, onde ocorre a utilização do piruvato com conseqüente fornecimento de duas moléculas de ATP e lactato (DAVIS *et al.*, 1988; ANDERSON & VASLEF, 1999).

Em estudo clínico ou experimental do CH ocorre a acidose metabólica decorrente da isquemia tecidual. Essa situação de metabolismo anaeróbico é responsável pela elevação do nível de lactato (BRODER & WEIL, 1964; BLAIR, COWLEY, TAIT, 1965; VITEK & COWLEY, 1971; JENG *et al.*, 1997; PORTER & IVATURY, 1998; SHAH *et al.*, 1998; MOOMEY *et al.*, 1999).

Na acidose metabólica ocorre também o consumo de reserva de base (“*base excess*”) como meio de compensação da alteração do pH sangüíneo.

As determinações do lactato sérico e da DB podem ser utilizadas como parâmetros de hipoperfusão tecidual e também para avaliar a ressuscitação (DAVIS, 1994).

A mensuração do lactato sérico na prática médica não é um exame rápido e de rotina nos laboratórios da maioria das instituições no atendimento inicial ao politraumatizado, apesar de ser considerado na literatura como um ótimo indicador de estado de choque e de ressuscitação (BRODER & WEIL, 1964; BLAIR, COWLEY, TAIT, 1965; VITEK & COWLEY, 1971; JENG *et al.*, 1997; PORTER & IVATURY, 1998; SHAH *et al.*, 1998; MOOMEY *et al.*, 1999).

No presente trabalho utilizaram-se tiras testes para determinação quantitativa do lactato sérico, um método de fácil aplicação. Outra forma de mensuração é através de equipamento de gasometria, que, além dos parâmetros dos gases sanguíneos completos determinam medidas de eletrólitos, glicemia, hemoglobina, hematócrito e o lactato.

A determinação da DB é outro método utilizado como índice para avaliar o estado de choque (DAVIS, 1994). O volume de cristalóides e/ou sangue utilizados na ressuscitação é diretamente proporcional ao déficit de base (DAVIS *et al.*, 1988; DAVIS, SHACKFORD, HOLBROOK, 1991).

O grupo Pringle demonstrou os maiores valores do lactato sérico (RP 60 = 6,55 mmol/l) e da DB (RP 60 = -10,94 mmol/l) no final do experimento, caracterizando o estado de má perfusão tecidual ocorrido no animal.

O presente estudo experimental demonstrou uma nítida relação da DB e os níveis de lactato, fato que indica que ambos podem ser utilizados para avaliação do estado de choque e ressuscitação, nas diferentes fases do experimento (Graf. 10).

5.7. SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM

A I/R hepática tem sido modelo em estudo de diversos trabalhos na literatura, como alavanca inicial no desenvolvimento da SDMO, porém sem associação do estado de hipovolemia.

Durante o CH, a redistribuição do fluxo sanguíneo leva à isquemia renal. Entretanto, ocorrem importantes alterações no período de reperfusão (BURKE *et al.*, 1986; PARKS & GRANGER, 1988; AKIN *et al.*, 1993; BOGOSSIAN & BOGOSSIAN, 2001).

MARTINS (1997) utilizou a MP como modelo experimental de isquemia e reperfusão sem hipovolemia, procedimento que mesmo assim conduz a uma isquemia renal por diminuição do débito cardíaco em consequência da queda da pré-carga. Nesse estudo, a maior ocorrência de seqüestro de neutrófilos, através da dosagem da mieloperoxidase, foi verificado no grupo submetido a um período de reperfusão de 120 minutos.

As alterações funcionais e morfológicas do rim na SDMO ocorrem devido à hipoperfusão tecidual, e a redistribuição do fluxo sanguíneo afeta primeiramente o córtex renal (ANDERSON & VASLEF, 1999).

Foi demonstrado em estudo experimental que a isquemia renal seguida de reperfusão é responsável pela lesão tecidual independentemente das alterações imunológicas, e condutas que previnam ou amenizem essas situações são prioridade como proteção renal (DRAGUN *et al.*, 2000).

Após a isquemia e reperfusão renal ocorre necrose tubular aguda nas primeiras horas, com ausência de infiltrado celular, porém com ativação de células inflamatórias (polimorfonucleares, monócitos/macrófagos). Posteriormente, há regeneração das lesões com conseqüente acúmulo de monócitos/macrófagos e linfócitos T, em contraste com o baixo número de neutrófilos encontrados. Os métodos de identificação específica de neutrófilos (exs: mieloperoxidase) fazem reação cruzada com monócito/macrófago, fato que esclarece o menor número presente de neutrófilos pós isquemia e reperfusão renal (YSEBAERT *et al.*, 2000).

A determinação do nível de mieloperoxidase para presença de PMN no tecido é limitado por outros motivos: a mensuração da enzima não distingue PMN aderidos e circulantes; na concentração total da enzima há participação de peroxidases e outras mieloperoxidases tal como hemoglobina “pseudoperoxidase” e catalase (ANDERSON *et al.*, 1991).

Devido aos fatores que podem influenciar uma avaliação bioquímica adequada do seqüestro de neutrófilos no interstício dos tecidos, a contagem dos mesmos é um índice fiel sem interferência dos fatores acima citados.

Neste estudo, ocorreu acúmulo máximo de PMN no córtex renal no grupo Choque ($1,06 \pm 0,61$ PMNs/campo). Tal resultado foi inesperado, visto que o CH seguido pela MP, duas condições críticas que foram estabelecidas no grupo Choque-Pringle, não promoveram maior acúmulo de neutrófilos em comparação aos grupos Choque e Pringle.

Este fato por ser explicado pelas alterações hemodinâmicas presentes durante a MP caracterizadas pela queda abrupta do débito cardíaco e volume circulante efetivo, fatores que promovem uma diminuição do fluxo sanguíneo renal, conseqüentemente um menor número de neutrófilos. Como se sabe, a isquemia tecidual provoca uma lesão endotelial desencadeando o processo de seqüestração de neutrófilos. Dessa forma, após a MP, os neutrófilos ativados no território esplâncnico percorrem o leito vascular hepático, local onde realizam aderência ao endotélio decorrente do processo de I/R hepática, o que proporciona uma diminuição dessas células ativadas carregadas pela corrente sanguínea. Essa condição contribui para um menor acúmulo de neutrófilos no rim mediante a MP.

Outro fator relevante que é responsável pelo efeito de seqüestração dos neutrófilos após isquemia tecidual é o período de reperfusão.

MARTINS (1997) demonstrou que o afluxo de neutrófilos é tempo-dependente para o rim. Após um período de 120 minutos de reperfusão inicia-se um afluxo maior dessas células para o interstício.

5.8. MORTALIDADE

No presente trabalho ocorreram três óbitos (9,3%): dois animais no grupo Choque-Pringle e um no grupo Pringle.

Em todos eles foram realizadas as necrópsias, em que foram verificadas as seguintes alterações macroscópicas: congestão venosa esplâncnica importante, petéquias nas alças intestinais, exsudato sanguinolento na cavidade abdominal.

Na literatura, estudos demonstraram que a MP quando realizada acima de um período maior que 30 minutos em ratos é potencialmente letal (MEIJA, 1964; GONCE *et al.*, 1995).

5.9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No trauma, o atendimento inicial e a ressuscitação, seguidos pelo reparo das lesões, são os primeiros degraus do tratamento efetivo do paciente. O cuidado ao paciente traumatizado crítico no período pós-operatório imediato e tardio concentra-se no controle das repercussões e complicações das lesões reparadas com ou sem condições associadas (patologias mórbidas e/ou situação crítica como o CH).

O trauma hepático grave é tema de constantes estudos devido às complicações inerentes à lesão e ao estado CH que apresentam um índice elevado de morbidade e mortalidade.

O presente trabalho estabelece um modelo experimental de duas situações críticas no trauma: I/R hepática e o CH. Este modelo, baseando-se na revisão de literatura, tem como finalidade avaliar os princípios das alterações sistêmicas que desencadeiam a SDMO, tendo como ponto de referência a lesão renal.

Conforme a literatura, os neutrófilos têm participação fundamental na lesão dos órgãos no desenvolvimento da SDMO, mediante sua ativação seguida da seqüestração no interstício dos tecidos.

Portanto, a partir desses princípios e diante dos resultados deste trabalho experimental, torna-se primordial que novos estudos sejam realizados para melhor compreensão dos mecanismos de lesão tecidual provocada tanto no estado de má perfusão ou no período de reperusão, assim como estabelecer protocolos que venham prevenir ou amenizar as complicações tardias dessas situações críticas no paciente traumatizado.



6. CONCLUSÃO

O presente modelo experimental de isquemia hepática total por 15 minutos associado ao estado de choque hemorrágico controlado, seguido de reperfusão de 60 minutos para seqüestro de polimorfonucleares no rim do rato, permitiu as seguintes conclusões:

- a) O presente modelo promoveu seqüestração de polimorfonucleares em todos os grupos estudados.
- b) No grupo Choque ocorreu maior seqüestração de polimorfonucleares comparativamente aos demais grupos.
- c) Nos grupos Pringle e Choque-Pringle, comparativamente, não foi significativa a ocorrência de seqüestração de polimorfonucleares.



7. SUMMARY

The liver is one of the most insulted organs in the abdominal trauma and the basic principle and the initial treatment of the hepatic bleeding lesion is the control of the hemorrhage. The temporary occlusion of the hepatoduodenal ligament that contains the portal vein, the hepatic artery and biliary duct, known as Pringle's Maneuver, decreases the loss of blood volume allowing the surgeon to repair the hepatic lesion and the anesthetist to accomplish for resuscitation.

In spite of being a fast, easy and effective maneuver, this procedure provokes ischemia liver ischemia and carries important alterations in hepatocytes function during the reperfusion phase due to many substances, liberation, as cytokines, that unchain the systemic inflammatory reaction.

In this experiment 32 male adult Wistar mice, with middleweight that varied from 185 to 240 grams, with age close of seven weeks, were studied.

The animals were randomized and divided into four equal groups:

Control Group: "sham" terms, submitted to the catheterizations and laparotomy, followed by a period 60 minute of observation.

Shock Group: controlled of hemorrhagic shock, followed by volume replacement and 60 minutes of reperfusion.

Pringle Group: Pringle's Maneuver for 15 minutes, followed by 60 minutes reperfusion.

Shock-Pringle Group: controlled hemorrhagic shock controlled followed by laparotomia and PM, with volume replacement during Pringle's Maneuver, followed by 60 minutes of reperfusion.

Anesthesia was accomplished by intraperitoneal inoculation of xylazina, cetamina and atropine solution.

The controlled hemorrhagic shock state was obtained by escalating bleeding through the right carotid artery.

The volume replacement was accomplished through the right jugular vein.

The continuous monitor of the mean arterial blood pressure was accomplished through the right femoral artery.

To characterize the low tissular perfusion blood lactate and the base reserve were measured.

After reperfusion period the animals were sacrificed by bleeding through the right carotid artery.

In all groups the kidneys were fastened in 10% formalin, soaked in paraffin, cut and dyed histologic study of the number of neutrophiles for field in the renal cortex.

The results demonstrated that the present experimental model provided neutrophiles sequestration, and Pringle's Maneuver was not the principal condition responsible for this finding.

When each of group was compared between them the hemorrhagic shock state observed was the principal responsible to the large accumulation of neutrophiles in the renal cortex, that is, the value found in the Group Shock was greater than the rest.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGARWAL, S.; KANG, Y.; FREEMAN, J.A.; FORTUNATO, F.L.; PINSKY, M.R. - Postreperfusion syndrome: cardiovascular collapse following hepatic reperfusion during liver transplantation. **Transplant Proc**, **19**(4 Suppl 3): 54-5, 1987.
- AKAGI, M. & AKAGI, R. - Hepatic ischemia-reperfusion injury to the cardiovascular system in rats. **Jpn J Pharmacol**, **58** (Suppl 2):306P, 1992.
- AKIN, M.Z.; TUNCEL, N.; GURER, F.; KURAL, N.; USLU, S. - Effect of vasoactive intestinal peptide and naloxone combination on urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase level and kidney histology of rats exposed to severe hemorrhage. **Pharmacolgy**, **47**:194-9, 1993.
- AMBROSIO, G.; WEISFELDT, M.L.; JACOBUS, W.E.; FLAHERTY, J.T.- Evidence for a reservible oxygen radical-mediated component of reperfusion injury: reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the reflow. **Circulation**, **75**:282-91, 1987.
- ANDERSON, B.O.; BROWN, J.M.; SHANLEY, P.F.; BENSARD, D.D.; HARKEN, A.H. - Marginating neutrophils are reversibly adherent to normal lung endothelium. **Surgery**, **109**:51-61, 1991.
- ANDERSON, B.O.; BROWN, J.M.; HARKEN, A.H. - Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. **J Surg Res**, **51**:170-9, 1991.
- ANDERSON, R.W. & VASLEF, S.N. - Choque: causas e controle do colapso circulatório. In: SABBISTON, D. C. Jr. **Tratado de Cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. 15.ed., Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1999. p.63-85, vol.1.
- BACELAR Jr, J.C.; REPKA, J.C.; EIDT, J.; FONSECA, V.R.C.D.; SALLES Jr, G.; SOUZA-LIMA, M B. - Avaliação de hidrato de cloral, tiopental sódico e associação cetamina/xilazina na anestesia em ratos. **Acta Cir Bras**, **14**:149, 1999.
- BARNETT, C.C.; MOORE, E.E.; MOORE, F.A.; BIFFL, W.L.; SMITH, M.F. Jr.; CARL, V.S. - Intercellular adhesion molecule-1 promotes neutrophil-mediated cytotoxicity. **Surgery**, **118**:171-5, 1995.

- BITTERMAN, H.; BROD, V.; WEISZ, G.; KUSHNIR, D.; BITTERMAN, N. – Effects of oxygen on regional hemodynamics in hemorrhagic shock. **Am J Physiol**, 271(1Pt2):H203-11, 1996.
- BLAIR, E. ; COWLEY, R.A.; TAIT, M. K. - Refractory septic shock in man: role of lactate and pyruvate metabolism and acid-base balance in prognosis. **Am Surg**, 31: 537, 1965.
- BOGOSSIAN L. & BOGOSSIAN, A. T. – Choque. In: FREIRE, E. - **Trauma: a doença dos séculos**. São Paulo, Atheneu, 2001. p.161-86.
- BOIN, I.F.S.F.; SILVA JR, O.C.; LEONARDI, L.S. – Isquemia hepática experimental. In: SILVA JR, O.C.; ZUCOLOTO, S.; BEER JR, A. – **Modelos experimentais de pesquisa em cirurgia**. São Paulo, Robe Editorial, 1998, p.465 – 74.
- BOOTH, N.H. – Clinical stage of general anesthesia. In: **Veterinary pharmacology and therapeutics**. 5.ed., N.H. Booth and L.E. McDonald eds., Iowa State University Press, Ames, IA., 1982. p.165-74.
- BOTHA, A.J.; MOORE, F.A.; MOORE, E.E.; KIM, F.J.; BANERJEE, A.; PETERSON, V.M. - Postinjury neutrophil priming and activation: an early vulnerable window. **Surgery**, 118:358-64, 1995a.
- BOTHA, A.J.; MOORE, F.A.; MOORE, E.E.; SAUAIA, A.; BANERJEE, A.; PETERSON, V.M. - Early neutrophil sequestration after injury: a pathogenic mechanism for multiple organ failure. **J Trauma**, 39: 411-7, 1995b.
- BRODER, G. & WEIL, M.H. - Excess lactate: An index of reversibility of shock in human patients. **Science**, 143:1457, 1964.
- BURKE, T.J.; BURNIER, M.; LANGBERG, H.; SHANLEY, P.; SCHRIER, R.W. - Renal response to shock. **Ann Emerg Med**, 15: 1397-400, 1986.
- CADY, L.; WEIL, M.H.; ABDELMONEM, A.A. - Quantitation of severity of critical illness with special reference to blood lactate. **Crit Care Med**, 1:75-80, 1973.

- CHIARA, O.; PELOSI, P.; SEGALA, M.; TURCONI, M.G.; BRAZZI, L.; BOTTINO, N.; TACCONE, P.; ZAMBELLI, M.; TIBERIO, G.; BOSWELL, S.; SCALEA, T.M. – Mesenteric and renal oxygen transport during hemorrhage and reperfusion: evaluation of optimal goals for resuscitation. **J Trauma**, **51**:356-62, 2001.
- COLLETTI, L.M.; REMICK, D.G.; BURTCK, G.D.; KUNKEL, S.L.; STREATER, R.M.; CAMPBELL, Jr.D.A. - Role of tumor necrosis factor- α in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. **J Clin Invest**, **85**:1936-43, 1990.
- DATASUS – <http://www.datasus.gov.br>. – Mortalidade CID 10.
- DAVIS, J.W.; SHACKFORD, S.R.; MACKERSIE, R.C.; HOYT, D.B. - Base deficit as a guide to volume resuscitation. **J Trauma**, **28**:1464-67, 1988.
- DAVIS, J.W.; SHACKFORD, S.R.; HOLBROOK, T.L.-Base deficit as a sensitive indicator of compensated shock and tissue oxygen utilization. **Surg Gynecol Obstet**, **173**: 473-6, 1991.
- DAVIS, J.W.-The relationship of base deficit to lactate in porcine hemorrhagic shock and resuscitation. **J Trauma**, **36**:168-72, 1994.
- DEB, S.; MARTIN, B.; SUN, L.; RUFF, P.; BURRIS, D.; RICH, N.; DeBREUX, S.; AUSTIN, B.; RHEE, P. - Resuscitation with lactated Ringer's solution in rats with hemorrhagic shock induces immediate apoptosis. **J Trauma**, **46**:582-8, 1999.
- DELVA, E.; CAMUS, Y.; NORDLINGER, B.; HANNOUN, L.; PARC, R.; DERIAZ, H.; LIENHART, A.; HUGUET, C. - Vascular occlusions for liver resections: operative management and tolerance to hepatic ischemia: 142 cases. **Ann Surg**, **209**:211-8, 1989.
- DRAGUN, D.; HOFF, U.; PARK, J.K.; QUN, Y.; SCHNEIDER, W.; LUFT, F.C.; HALLER, H. - Ischemia-reperfusion injury in renal transplantation is independent of the immunologic background. **Kidney Int**, **58**:2166-77, 2000.

- ERIKSSON, E.; STRAUBE, R.C.; ROBSON, M.C. - White blood cell consumption in the microcirculation after a major burn. **J Trauma**, **19**:94-7, 1979.
- EURENIUS, K. & BROUSE, R.O. - Granulocyte kinetics after thermal injury. **Am J Clin Pathol**, **60**:337-42, 1973.
- FELICIANO, D.V.; MATTOX, K.L.; JORDAN, G.L.Jr.; BURCH, J.M.; BITONDO, C.G.; CRUSE, P.A. - Management of 1000 consecutive cases of hepatics trauma (1979-1984). **Ann Surg**, **204**:438-45, 1986.
- FLECKNELL, P.A. - Anaesthesia of common laboratory species. In: FLECKNELL, P.A. (ed). **Laboratory animal anaesthesia**. USA, Academic Press, 1996, p.161-8.
- FUJISHIMA, S. & AIKAWA, N.-Neutrophil-mediated tissue and its modulation. **Intensive Care Med**, **21**:277-85, 1995.
- FURUICHI, K.; WADA, T.; IWATA, Y.; SAKAI, N.; YOSHIMOTO, K.; KOBAYASHI, K.K.; MUKAIDA, N.; MATSUSHIMA, K.; YOKOYAMA, H. – Administration of FR167653, a new anti-inflammatory compound, prevents renal ischaemia/reperfusion injury in mice. **Nephrol Dial Transplant**, **17**:399-07, 2002.
- GONCE, M.E.; BRACKETT, D.J.; SQUIRES, R.A.; GIBSON, D.D.; BALLA, A.K.; LERNER, M.R.; McCAY, P.B.; PENNINGTON, L.R. - Development of circulatory and metabolic shock following transient portal triad occlusion. **J Surgery Res**, **59**:534-43, 1995.
- GRACE, P.A. - Ischaemia-reperfusion injury. **Br J Surg**, **81**:637-47, 1994.
- GRANGER, D. N. & KORTHUIS, R.J. - Physiologic mechanism of postischemia tissue injury. **Ann Rev Physiol**, **57**:311-32, 1995.
- GUTE, D. & KORTHUIS, R.J.-Role of leukocytes adherence in reperfusion-induced microvascular dysfunction and tissue injury. In: GRANGER, D.N & SMIDT-SCHONBEIN, G.W. (eds). **Physiology and Pathophysiology of leukocyte adhesion**. U.S.A., New York: Oxford, 1995.p.359-80.

- HAYASHI, H.; CHAUDRY, I.H.; CLEMENS, M.G.; BAUE, A.E. - Hepatic ischemia models for determining the effects of ATP-Mg Cl₂ treatment. **J Surgery Res**, **40**:167-75, 1986.
- HIRANO, E.S.; MORANDIN, R.C.; MANTOVANI, M. - Efeitos da manobra de Pringle nos níveis pressóricos em condições de normalidade e estado de choque hemorrágico controlado no rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, **14** (supl. 2):69, 1999.
- HORIUCHI, T.; MURAOKA, R.; TABO, T.; UCHINAMI, M.; KIMURA, N.; TANIGAWA, N. - Optimal cycles of hepatic ischemia and reperfusion intermittent pedicle clamping during liver surgery. **Arch Surg**, **130**:754-8, 1995.
- HUCKABEE, W.E. - Relationships of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism: II. Exercise and formation of O₂ debt. **J Clin Invest**, **37**:255-263, 1958.
- HUGUET, C.; NORDLINGER, B.; BLOCH, P. - Tolerance of the human liver to prolonged normothermic ischemia. **Arch Surg**, **113**: 1448, 1978.
- ISOZAKI, H.; ADAM, R.; GIGOU, M.; SZEKELY, A.M.; SHEN, M.; BISMUTH, H. - Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. **Br J Surg**, **79**:310-3, 1992.
- ISOZAKI, H.; OKAJIMA, K.; KOBAYASHI, M.; HARA, H.; AKIMOTO, H. - Experimental study of liver injury after partial hepatectomy with intermittent or continuous hepatic vascular occlusion. Differences in tolerance to ischemia between normal and cirrhotic livers. **Eur Surg Res**, **27**:313-22, 1995.
- JENG, J.C.; LEE, K.; JABLONSKI, K.; JORDAN, M.H. - Serum lactate and base deficit suggest inadequate resuscitation of patients with burn injuries: application of a point-of-care laboratory instrument. **J Burn Care Rehabil**, **18**: 402-5, 1997.
- JOHNSTONE, F.R.C. - Acute ligation of the portal vein. **Surgery**, **41**:958-71, 1957.
- JORGE, P.A.R.; CURTI, H.V.; METZE, K. - A microcirculação coronária na reperfusão miocárdica. O fenômeno da não-reperfusão. **Arq Bras Cardiol**, **56**:471-6, 1991.

- KINCAID, E.H.; MILLER, P.R.; MEREDITH, J.W.; RAHMAN, N.; CHANG, M.C. - Elevated arterial base deficit in trauma patients: a marker of impaired oxygen utilization. **J Am Coll Surg**, 187: 384-92, 1998.
- KOGURE, K. & SUZUKI, M. – Effects of hepatic inflow occlusion on changes in plasma potassium, histamine, and norepinephrine in rats. **Circ Shock**, 36:290-8, 1992.
- KOHN, D.F.; WIXSON, S.K.; WHITE, W.I.; BENSON, G.I. - Anesthesia and analgesia in laboratory animals. 1ª ed., Londres, **Academic Press**, 1997.p.426.
- KOMATSU, H.; KOO, A.; GHADISHAH, E.; ZENG, H.; KUHLENKAMP, J.F.; INOUE, M.; GUTH, P.H.; KAPLOWITZ, N. - Neutrophil accumulation in ischemic reperfused rat liver: evidence for a role for superoxide free radicals. **Am J Physiol**, 262:669-76, 1992.
- KORTHUIS, R. J.; GUTE, D.C.; BLECHA, F.; ROSS, C.R.-PR-39, a proline/arginine-rich antimicrobial peptide, prevents postischemic microvascular dysfunction. **Am J Physiol**, 277(Heart Circ. Physiol. 46): H1007-13, 1999.
- KÜÇÜKAYDIN, M.; KOCAOGLU, C.; KÖKSAL, F.; KONTAS, O. – Detection of intestinal bacterial translocation in subclinical ischemia-reperfusion using the polymerase chain reaction technique. **J Pediatr Surg**, 35:41-3, 2000.
- LO, C. C.; CHEN, J. C.; CHEN, H. M.; SHYR, M. H.; LAU, Y. T.; LIN, J. N.; CHEN, M. F. – Aminoguanidine attenuates hemodynamic and microcirculatory derangement in rat intestinal ischemia and reperfusion. **J Trauma**, 47: 1108-13, 1999.
- LORENZI, T.F. - Leucócitos. In: AIRES, M.M. (ed). **Fisiologia**, Brasil, Guanabara-Koogan, 1991. p.75-93.
- MARTINS Fº, O. - **Efeitos da isquemia e reperfusão hepática total no seqüestro de neutrófilos no pulmão, rim e íleo terminal e na produção de citocinas**. Estudo experimental em ratos. São Paulo, 1997. (Tese–Doutorado–Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).

- MARUBAYASHI, S.; DOHI, K.; OCHI, K.; KAWASAKI, T. - Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: prevetion of damage by α -tocopherol administration. **Surgery**, **99**:184-92, 1986.
- McNAMARA, J. J.; SUEHIRO, G. T.; SUEHIRO, A.; JEWETT, B. - Resuscitation from hemorrhagic shock. **J Trauma**, **23**:552-8, 1983.
- MEIJA, R. H. - Hypovolemic shock in the rat. **Acta Physiol Lat Am**, **14**:77, 1964.
- METCHNIKOFF, E. - Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes. **Ann Inst Pasteur**, **1**:321, 1887 *apud* ANDERSON, B.O.; BROWN, J.M.; HARKEN, A.H. Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. **J Surg Res**, **51**:170-9, 1991.
- MOOMEY, C.B.Jr.; MELTON, S.M.; CROCE, M.A.; FABIAN, T.C.; PROCTOR, K.G. - Prognostic value of blood lactate, base deficit, and oxygen-derived variables in an LD50 model of penetratin trauma. **Crit Care Med**, **27**:154-61, 1999.
- MOORE, E. E.; SHACKFORD, S. R.; PACHTER, H. L.; McANINCH, J. W.; BROWNER, B. D.; CHAMPION, H. R.; FLINT, L. M.; GENNARELLI, T. A.; MALANGONI, M. A.; RAMENOFISKY, M. L.; TRAFTON, P. G. - Organ injury scaling: spleen, liver and kidney. **J Trauma**, **29**:1664-66, 1989.
- NAUTA, R.J.; TSIMOYANNIS, E.; URIBE, M.; WALSH, D.B.; MILLER, D.; BUTTERFIELD, A. - Oxygen-derived free radicals in hepatic ischemia and reperfusion injury in the rat. **Surg Gynecol Obstet**, **171**:120-5, 1990.
- OSLON, M.E.; VIZZUTTI, D.; MORCK, D.W.; COX, A.K. - The parasympatholytic effects of atropine sulphate and glycopyrrolate in rats and rabbits. **Can J Vet Res**, **57**:254-8, 1993.
- PACHTER, H.L.; SPENCER, F.C.; HOFFSTETTER, S.R. - Experience with finger fracture technique to achieve intra-hepatic hemostasis in 75 patients with severe injuries to the liver. **Ann Surg**, **197**:771-8, 1983.

- PACHTER, H.L.; SPENCER, F.C.; HOFFSTETTER, S.R.; LIANG, H.G.; COPPA, G.F. - Significant trends in the treatment of hepatic trauma. Experience with 411 injuries. **Ann Surg**, 215:492-502, 1992.
- PACHTER, H.L. & FELICIANO, D.V. - Complex hepatic injuries. **Surg Clin North Am**, 76: 763-82, 1996.
- PACHTER, H.L.; LIANG, H.G.; HOFSTETTER, S.R. - Liver and Biliary Tract Trauma. In: MATTOX, K.L.; FELICIANO, D.V.; MOORE, E.E. (ed). **Trauma**. EUA, McGraw-Hill, 1999. p.633-82.
- PANES. J & GRANGER, D. N. - Leukocyte-endothelial cell interaction: molecular mechanism and implications in gastrointestinal disease. **Gastroenterology**, 114:1066-90, 1998.
- PARKS, D.A. & GRANGER, D.N. - Ischemia-reperfusion injury: a radical view. **Hepatology**, 8:680-2, 1988.
- PORTER, J.M. & IVATURY, R.R. – In search of the optimal end points of resuscitation in trauma patients: a review. **J Trauma**, 44:908-14, 1998.
- PRINGLE, J.H. - Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. **Ann Surg**, 48: 541-9, 1908.
- POGETTI, R.S.; SOUZA Jr, A.L.; FONTES, B. – Isquemia e reperfusão. In: YOUNES, R.N. & BIROLINI, D. (ed). – **Bases fisiopatológicas da cirurgia**. São Paulo, Lemar, 1999. p.135-47.
- RAFFUCCI, F.L. - The effects of tempory occlusion of the afferent hepatic circulation in dogs. **Surgery**, 33:342-51, 1953.
- 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**, 44:313-9, 1998.
- RODRIGUES, A.A.; LaMORTE, W.W.; HANRAHAN, L.M.; HOPKINS, S.R.; O'KEANE, J.C.; CACHECHO, R.; HIRSCH, E.F. – Liver viability after ischemia-reperfusion. **Arch Surg**, 126:767-72, 1991.

- RUBIN, B.; SMITH, A.; LIAUW, S.; ISENMAN, D.; ROMASCHIN, A.; WALKER, P. – Complement activation and white cell activation in postischemia skeletal muscle. **Am J Physiol**, **259 (Heart Circ Physiol 28)**: H525-31, 1990.
- RUSSELL, D.H.; BARRETO, J.C.; KLEMM, K.; MILLER, T.A. – Hemorrhagic shock increases gut macromolecular permeability in the rat. **Shock**, **4**:50-5, 1995.
- SHAH, N.S.; KELLY, E.; BILLIAR, T.R.; MARSHALL, H.M.; HARBRECHT, B.G.; UDEKWU, A.O.; PEITZMAN, A.B. – Utility of clinical parameters of tissue oxygenation in a quantitative model of irreversible hemorrhagic shock. **Shock**, **10**:343-6, 1998.
- SILVA, M.R. & FIGUEIREDO, L.F.P. – Fisiopatologia do choque hipovolêmico. In: YOUNES, R.N. & BIROLINI, D. (ed). – **Bases fisiopatológicas da cirurgia**. São Paulo, Lemar, 1999. p.9-19.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CLÍNICA MÉDICA: www.sbcm-rj.org.
- SOUZA, A. L.; POGGETTI, R.S.; FONTES, B. ; BIROLINI, D. – Gut ischemia/reperfusion activates lung macrophages for tumor necrosis factor and hydrogen peroxide production. **J Trauma**, **49**:232-6, 2000.
- TORRES, O.J.M.; MACEDO, E.L.; MELO, T.C.M.; COSTA, J.V.G.; NUNES, P.M.S.; VIANA, R.M.M.; DIETZ, U.A. – Peritonite fecal em ratos: eficácia da lavagem da cavidade peritoneal com solução de cloreto de sódio à 0,9%. **Acta Cir Bras**, **14**:65-8, 1999.
- UCHINAMI, M.; MURAOKA, R.; HORIUCHI, T.; TABO, T.; KIMURA, N.; NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T. – Effect of intermittent hepatic pedicle clamping on free radical generation in the rat liver. **Surgery**, **124**: 49-56, 1998.
- USHIGOME, H.; SANO, H.; OKAMOTO, M.; KADOTANI, Y.; NAKAMURA, K.; AKIOKA, K.; YOSHIMURA, R.; OHMORI, Y.; YOSHIMURA, N. – The role of tissue factor in renal ischemic reperfusion injury of the rat. **J Surg Res**, **102**:102-9, 2002.

- VEDDER, N.B.; FOUTY, B.W.; WINN, R.K.; HARLAN, J.M.; RICE, C.L. – Role of neutrophils in generalized reperfusion injury associated with resuscitation from shock. **Surgery**, **106**: 509-16, 1989.
- VITEK, V. & COWLEY, R.A. – Blood lactate in the prognosis of various forms of shock. **Ann Surg**, **173**: 308-13, 1971.
- WANG, M.; SAKON, M.; UMESHITA, K.; MIYOSHI, H.; TANIGUCHI, K.; KISHIMOTO, S.; IMAJOH-OHMI, S.; MONDEN, M. – Determination of a safe vascular clamping method for liver surgery. **Arch Surg**, **133**: 983-7, 1998.
- WARD, P. – Ischemia, reperfusion and organ dysfunction: biochemical and cellular events. **J Vasc Surg**, **18**:111,1993.
- WARD, D. T.; LAWSON, S. A.; GALLAGHER, C. M.; CONNER, W. C.; SHEADONOHUE, T. – Sustained nitric oxide production via L-arginine administration ameliorates effects of intestinal ischemia-reperfusion. **J Surg Res**, **89**:13-9, 2000.
- WEIGHT, S.C.; BELL, P.R.; NICHOLSON, M.L. – Renal ischaemia-reperfusion injury. **Br J Surg**, **83**:162-70, 1996.
- WILSON, R.H. & MOOREHEAD, R.J. – Hepatic trauma and its management. **Injury**, **22**: 439-45, 1991.
- WOOD, M. – Intravenous Anesthetic Agents. In: WOOD, M. & WOOD. A. J.J. (ed). **Drugs and Anesthesia**. Baltimore, USA, 1990. p.193-6.
- YSEBAERT, D.K.; De GREEF, K.E.; VERCAUTEREN, S.R.; GHIELLI, M.; VERPOOTEN, G.A.; EYSKENS, E.J.; De BROE, M.E. – Identification and kinetics of leukocytes after sever ischaemia/reperfusion renal injury. **Nephrol Dial Transplant**, **15**:1562-74, 2000.

As referências bibliográficas seguiram as normas da Associação Brasileira de Normas e Técnicas – ABNT: NBR-6023, ago/1989.



9. ANEXOS

ANEXO 1 – Protocolo de pesquisa

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - UNICAMP- DISCIPLINA DE CIRURGIA DO TRAUMA LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE CIRURGIA DO TRAUMA – LICIT

ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL EM CONDIÇÕES DE NORMALIDADE E SOB ESTADO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO – EFEITOS NO SEQUESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DO RATO

PROTOCOLO DE PESQUISA - GRUPO CONTROLE

DATA : __ / __ / __

FICHA N.º : ____

01 – DADOS DO ANIMAL

Grupo : ____ N.º : ____ Peso : ____ g Idade : ____ semanas
VE(5.4% peso) 100% VE : ____ ml 40% VE : ____ ml 30% VE : ____ ml
5% VE : ____ ml 2,5% VE : ____ ml

02 – PROCEDIMENTO ANESTÉSICO (Hora : ____ : ____)

Volume_{A1} : ____ ml Atropina : ____ ml FR_A : ____ mov./min.

Oxigênio : 2 l / min.

TR_A : ____ °C

Complemento Volume_{A2} : ____ ml Hora_{A2} : ____ : ____ h

Volume_{A3} : ____ ml Hora_{A3} : ____ : ____ h

1 - Sol. Anestésica = Ketamina 80 mg/kg + Xilazina 10 mg/kg
2 - Atropina = 0,05 mg/Kg

03 – SINAIS VITAIS INICIAIS (Hora : ____ : ____)

PAM_{SV} : ____ mmHg FR_{SV} : ____ mov./min. FC_{SV} : ____ bpm TR_{SV} : ____ °C

Gasometria_{SV} pH_{SV} : ____ PCO_{2SV} : ____ mmHg PO_{2SV} : ____ mmHg

Bicarb_{SV} : ____ mmol/l DB_{SV} : ____ mmol/l Na⁺_{SV} : ____ mEq/l

K⁺_{SV} : ____ mEq/l Ht_{SV} : ____ % Lactato_{SV} : ____ mmol/l

Lâmina_{SV} Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linf atip : ____

04 – LAPAROTOMIA 5 min (Hora : ____ : ____)

Monitorizaçãol FR_L : ____ mov./min FC_L : ____ bpm TR_L : ____ °C

PAM_L : ____

05 – REPERFUSÃO 60 min (Hora : ____ : ____)

Monitorizaçãor_P 30' FR_{RP30} : ____ mov./min. FC_{RP30} : ____ bpm TR_{RP30} : ____ °C

Gasometriar_P30 pH_{RP30} : ____ PCO_{2RP30} : ____ mmHg PO_{2RP30} : ____ mmHg

Bicarb_{RP30} : ____ mmol/l DB_{RP30} : ____ mmol/l Na⁺_{RP30} : ____ mEq/l

K⁺_{RP30} : ____ mEq/l Ht_{RP30} : ____ % Lactator_P30 : ____ mmol/l

PAM_{RP30} : ____ mmHg Volume_{RP30} : ____ ml % VER_P30 : ____ %

06 – REPERFUSÃO 60 min (Hora : ____ : ____)

Monitorização_{RP 30'} FR_{RP30} : ____ mov./min. FC_{RP30} : ____ bpm TR_{RP30} : ____ °C
Gasometri_{RP30} pH_{RP30} : ____ PCO_{2RP30} : ____ mmHg PO_{2RP30} : ____ mmHg
Bicarb_{RP30} : ____ mmol/l DB_{RP30} : ____ mmol/l Na⁺_{RP30} : ____ mEq/l
K⁺_{RP30} : ____ mEq/l Ht_{RP30} : ____ % Lactato_{RP30} : ____ mmol/l
PAM_{RP30} : ____ mmHg Volume_{RP30} : ____ ml % V_{ERP30} : ____ %

Monitorização_{RP 60'} FR_{RP60} : ____ mov./min. FC_{RP60} : ____ bpm TR_{RP60} : ____ °C
Gasometri_{RP60} pH_{RP60} : ____ PCO_{2RP60} : ____ mmHg PO_{2RP60} : ____ mmHg
Bicarb_{RP60} : ____ mmol/l DB_{RP60} : ____ mmol/l Na⁺_{RP60} : ____ mEq/l
K⁺_{RP60} : ____ mEq/l Ht_{RP60} : ____ % Lactato_{RP60} : ____ mmol/l
PAM_{RP60} : ____ mmHg Volume_{RP60} : ____ ml % V_{ERP60} : ____ %
Lâmina_{RP60} Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linf atip : ____

07 – HISTOPATOLOGIA

Córtex renal : ____ PMN/campo

08 – OBSERVAÇÕES

VE - Volemia estimada FR – Frequência respiratória FC – Frequência cardíaca TR – temperatura retal PAM – Pressão arterial média

DB – Diferença de base

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - UNICAMP – DISCIPLINA DE CIRURGIA DO TRAUMA
LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE CIRURGIA DO TRAUMA – LICIT

ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL EM CONDIÇÕES DE NORMALIDADE E SOB ESTADO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO – EFEITOS NO SEQUESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DO RATO

PROTOCOLO DE PESQUISA - GRUPO CHOQUE

DATA : ____ / ____ / ____

FICHA N.º : ____

01 – DADOS DO ANIMAL

Grupo : ____ N.º : ____ Peso : ____ g Idade : ____ semanas
VE(5.4% peso) 100% VE : ____ ml 40% VE : ____ ml 30% VE : ____ ml
5% VE : ____ ml 2,5% VE : ____ ml

02 – PROCEDIMENTO ANESTÉSICO (Hora : ____ : ____)

Volume_{A1} : ____ ml Atropina : ____ ml FR_A : ____ mov./min.

Oxigênio : 2 l/min.

TR_A : ____ °C

Complemento Volume_{A2} : ____ ml Hora_{A2} : ____ : ____ h

Volume_{A3} : ____ ml Hora_{A3} : ____ : ____ h

1 - Sol. Anestésica = Ketamina 80 mg/kg + Xilazina 10 mg/kg
2 - Atropina = 0,05 mg/Kg

03 – SINAIS VITAIS INICIAIS (Hora : ____ : ____)

PAM_{SV} : ____ mmHg FR_{SV} : ____ mov./min. FC_{SV} : ____ bpm TR_{SV} : ____ °C
Gasometrias_{SV} pH_{SV} : ____ Pco_{2SV} : ____ mmHg Po_{2SV} : ____ mmHg
Bicarb_{SV} : ____ mmol/l DB_{SV} : ____ mmol/l Na⁺_{SV} : ____ mEq/l
K⁺_{SV} : ____ mEq/l Ht_{SV} : ____ % Lactato_{SV} : ____ mmol/l
Lâmina_{SV} Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linf atip : ____

04 – SANGRIA 15 min (Hora : ____ : ____)

PAM_S 60 mmHg : Tempos₆₀ : ____ min.
FR_{S60} : ____ mov./min. FC_{S60} : ____ bpm TR_{S60} : ____ °C
Volume_{S60} retirado : ____ ml %VE_{S60} : ____ %
PAM_S 40 mmHg : Tempos₄₀ : ____ min.
FR_{S40} : ____ mov./min. FC_{S40} : ____ bpm TR_{S40} : ____ °C
Volume_{S40} retirado : ____ ml %VE_{S40} : ____ %

05 – CHOQUE 20 min (Hora : ____ : ____)

Monitorização_C 10' FR_{C10} : ____ mov./min. FC_{C10} : ____ bpm TR_{C10} : ____ °C
Monitorização_C 20' FR_{C20} : ____ mov./min. FC_{C20} : ____ bpm TR_{C20} : ____ °C
Gasometria_C pH_C : ____ Pco_{2C} : ____ mmHg Po_{2C} : ____ mmHg
Bicarb_C : ____ mmol/l DB_C : ____ mmol/l Na⁺_C : ____ mEq/l
K⁺_C : ____ mEq/l Ht_C : ____ % Lactato_C : ____ mmol/l

Monitorização_{RP 60'} FR_{RP60} : _____ mov.../ min FC_{RP60} : _____ bpm TR_{RP60} : _____ °C
 Gasometria_{RP60} pH_{RP60} : _____ PCO₂ _{RP60} : _____ mmHg PO₂ _{RP60} : _____ mmHg
 Bicarbo_{RP60} : _____ mmol/l DB_{RP60} : _____ mmol/l Na⁺_{RP60} : _____ mEq/l
 K⁺_{RP60} : _____ mEq/l Ht_{RP60} : _____ % Lactato_{RP60} : _____ mmol/l
 PAM_{RP60} : _____ mmHg Volume_{RP60} : _____ ml % VE_{RP60} : _____ %
 Lâmina_{RP60} Eosi : _____ Bast : _____ Segm : _____ Linf : _____ Mono : _____ Baso : _____ Linf atip : _____

10 – HISTOPATOLOGIA

Córtex renal : _____ PMN/campo

11 – OBSERVAÇÕES

VE - Volemia estimada FR – Frequência respiratória FC – Frequência cardíaca TR – temperatura retal PAM – Pressão arterial média

DB – Diferença de base

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - UNICAMP – DISCIPLINA DE CIRURGIA DO TRAUMA
LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE CIRURGIA DO TRAUMA – LICIT

ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL EM CONDIÇÕES DE NORMALIDADE E SOB ESTADO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO – EFEITOS NO SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DO RATO

PROTOCOLO DE PESQUISA - GRUPO PRINGLE

DATA : __ / __ / __

FICHA N.º : ____

01 – DADOS DO ANIMAL

Grupo : ____ N.º : ____ Peso : ____ g Idade : ____ semanas
VE(5.4% peso) 100% VE : ____ ml 40% VE : ____ ml 30% VE : ____ ml
5% VE : ____ ml 2,5% VE : ____ ml

02 – PROCEDIMENTO ANESTÉSICO (Hora : ____ : ____)

Volume_{A1} : ____ ml Atropina : ____ ml FR_A : ____ mov./min.

Oxigênio : 2 l / min.

TR_A : ____ °C

Complemento

Volume_{A2} : ____ ml

Hora_{A2} : ____ : ____ h

Volume_{A3} : ____ ml

Hora_{A3} : ____ : ____ h

1 - Sol. Anestésica = Ketamina 80 mg/kg + Xilazina 10 mg/kg
2 - Atropina = 0,05 mg/Kg

03 – SINAIS VITAIS INICIAIS (Hora : ____ : ____)

PAM_{SV} : ____ mmHg FR_{SV} : ____ mov./min. FC_{SV} : ____ bpm TR_{SV} : ____ °C
Gasometria_{SV} pH_{SV} : ____ Pco_{2SV} : ____ mmHg Po_{2SV} : ____ mmHg
Bicarb_{SV} : ____ mmol/l DB_{SV} : ____ mmol/l Na⁺_{SV} : ____ mEq/l
K⁺_{SV} : ____ mEq/l Ht_{SV} : ____ % Lactato_{SV} : ____ mmol/l
Lâmina_{SV} Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linf atip : ____

04 – LAPAROTOMIA 5 min (Hora : ____ : ____)

Monitorizaçãol FR_L : ____ mov./min. FC_L : ____ bpm TR_L : ____ °C
PAM_L : ____

05 – PRINGLE 15 min (Hora : ____ : ____)

Volume_p reposto : ____ ml % VE_p : ____ %
Monitorizaçãop FR_p : ____ mov./min. FC_p : ____ bpm TR_p : ____ °C
Gasometriap pH_p : ____ Pco_{2p} : ____ mmHg Po_{2p} : ____ mmHg
Bicarb_p : ____ mmol/l DB_p : ____ mmol/l Na⁺_p : ____ mEq/l
K⁺_p : ____ mEq/l Htp : ____ % Lactatop : ____ mmol/l
PAM_p : ____

06 – REPOSIÇÃO 10 min (Hora : ____ : ____)

PAM_R 80 mmHg FR_R : ____ mov./min. FC_R : ____ bpm TR_R : ____ °C
Volume_R : ____ ml % VE_R : ____ %

07 – REPERFUSÃO 60 min (Hora : ____ : ____)

Monitorizaçãor_P 30' FR_{RP30} : ____ mov./min. FC_{RP30} : ____ bpm TR_{RP30} : ____ °C
Gasometriar_P30 pH_{RP30} : ____ PCO₂RP30 : ____ mmHg PO₂RP30 : ____ mmHg
Bicarb_{RP30} : ____ mmol/l DB_{RP30} : ____ mmol/l Na⁺RP30 : ____ mEq/l
K⁺RP30 : ____ mEq/l Ht_{RP30} : ____ % Lactator_{RP30} : ____ mmol/l
PAM_{RP30} : ____ mmHg Volume_{RP30} : ____ ml % VE_{RP30} : ____ %

Monitorizaçãor_P 60' FR_{RP60} : ____ mov./min. FC_{RP60} : ____ bpm TR_{RP60} : ____ °C
Gasometriar_P60 pH_{RP60} : ____ PCO₂RP60 : ____ mmHg PO₂RP60 : ____ mmHg
Bicarb_{RP60} : ____ mmol/l DB_{RP60} : ____ mmol/l Na⁺RP60 : ____ mEq/l
K⁺RP60 : ____ mEq/l Ht_{RP60} : ____ % Lactator_{RP60} : ____ mmol/l
PAM_{RP60} : ____ mmHg Volume_{RP60} : ____ ml % VE_{RP60} : ____ %
Lâminar_P60 Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linfatip : ____

08 – HISTOPATOLOGIA

Córtex renal : ____ PMN/campo

09 – OBSERVAÇÕES

VE - Volemia estimada FR - Frequência respiratória FC - Frequência cardíaca TR - temperatura retal PAM - Pressão arterial média DB- Diferença de base

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - UNICAMP – DISCIPLINA DE CIRURGIA DO TRAUMA
LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE CIRURGIA DO TRAUMA – LICIT

ISQUEMIA E REPERFUSÃO HEPÁTICA TOTAL EM CONDIÇÕES DE NORMALIDADE E SOB ESTADO DE CHOQUE HEMORRÁGICO CONTROLADO – EFEITOS NO SEQÜESTRO DE NEUTRÓFILOS NO RIM DO RATO

PROTOCOLO DE PESQUISA - **GRUPO CHOQUE-PRINGLE**

DATA : ____ / ____ / ____

FICHA N.º : ____

01 – DADOS DO ANIMAL

Grupo : ____ N.º : ____ Peso : ____ g Idade : ____ semanas
 VE(5.4% peso) 100% VE : ____ ml 40% VE : ____ ml 30% VE : ____ ml
 5% VE : ____ ml 2,5% VE : ____ ml

02 – PROCEDIMENTO ANESTÉSICO (Hora : ____ : ____)

Volume_{A1} : ____ ml Atropina : ____ ml FR_A : ____ mov./min.

Oxigênio : 2 l / min.

TR_A : ____ °C

Complemento Volume_{A2} : ____ ml Hora_{A2} : ____ : ____ h

Volume_{A3} : ____ ml Hora_{A3} : ____ : ____ h

1 - Sol. Anestésica = Ketamina 80 mg/kg + Xilazina 10 mg/kg
 2 - Atropina = 0,05 mg/Kg

03 – SINAIS VITAIS INICIAIS (Hora : ____ : ____)

PAM_{SV} : ____ mmHg FR_{SV} : ____ mov./min. FC_{SV} : ____ bpm TR_{SV} : ____ °C

Gasometria_{SV} pH_{SV} : ____ PCO_{2SV} : ____ mmHg PO_{2SV} : ____ mmHg

Bicarb_{SV} : ____ mmol/l DB_{SV} : ____ mmol/l Na⁺_{SV} : ____ mEq/l

K⁺_{SV} : ____ mEq/l Ht_{SV} : ____ % Lactato_{SV} : ____ mmol/l

Lâmina_{SV} Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linf atip : ____

04 – SANGRIA 15 min (Hora : ____ : ____)

PAM_S 60 mmHg : ____ Tempos₆₀ : ____ min.

FR_{S60} : ____ mov./min. FC_{S60} : ____ bpm TR_{S60} : ____ °C

Volumes₆₀ retirado : ____ ml %VE_{S60} : ____ %

PAM_S 40 mmHg : ____ Tempos₄₀ : ____ min.

FR_{S40} : ____ mov./min. FC_{S40} : ____ bpm TR_{S40} : ____ °C

Volumes₄₀ retirado : ____ ml %VE_{S40} : ____ %

05 – CHOQUE 20 min. (Hora : ____ : ____)

Monitorização_C 10' FR_{C10} : ____ mov./min. FC_{C10} : ____ bpm TR_{C10} : ____ °C

Monitorização_C 20' FR_{C20} : ____ mov./min. FC_{C20} : ____ bpm TR_{C20} : ____ °C

Gasometria_C pH_C : ____ PCO_{2C} : ____ mmHg PO_{2C} : ____ mmHg

Bicarb_C : ____ mMol/l DB_C : ____ mMol/l Na⁺_C : ____ mEq/l

K⁺_C : ____ mEq/l Ht_C : ____ % Lactato_C : ____ mEq/l

06 – REPOSIÇÃO 10 min (Hora : ____ : ____)

PAM_R 80 mmHg FR_R : ____ mov./ min. FC_R : ____ bpm TR_R : ____ °C
Volum_R : ____ ml % VE_R : ____ %

07 – LAPAROTOMIA 5 min. (Hora : ____ : ____)

Monitorizaçãol FR_L : ____ mov./ min FC_L : ____ bpm TR_L : ____ °C
PAM_L : ____ mmHg

08 – PRINGLE 15 min. (Hora : ____ : ____)

Volum_p reposto : ____ ml % VE_p : ____ %
Monitorizaçãop FR_p : ____ mov./ min. FC_p : ____ bpm TR_p : ____ °C
Gasometriap pH_p : ____ PCO_{2p} : ____ mmHg PO_{2p} : ____ mmHg
Bicarbp : ____ mmol/l BE_p : ____ mmol/l Na⁺_p : ____ mEq/l
K⁺_p : ____ mEq/l Htp : ____ % Lactatop : ____ mMol/l
PAM_p : ____ mmHg

09 – REPERFUSÃO 60 min. (Hora : ____ : ____)

Monitorizaçãorp 30' FR_{RP30} : ____ mov./ min. FC_{RP30} : ____ bpm TR_{RP30} : ____ °C
Gasometriarp30 pH_{RP30} : ____ PCO_{2RP30} : ____ mmHg PO_{2RP30} : ____ mmHg
Bicarbrp30 : ____ mmol/l DB_{RP30} : ____ mmol/l Na⁺_{RP30} : ____ mEq/l
K⁺_{RP30} : ____ mEq/l Ht_{RP30} : ____ % Lactatorp30 : ____ mmol/l
PAM_{RP30} : ____ mmHg Volum_{RP30} : ____ ml % VE_{RP30} : ____ %

Monitorizaçãorp 60' FR_{RP60} : ____ mov./ min FC_{RP60} : ____ bpm TR_{RP60} : ____ °C
Gasometriarp60 pH_{RP60} : ____ PCO_{2RP60} : ____ mmHg PO_{2RP60} : ____ mmHg
Bicarbrp60 : ____ mmol/l BE_{RP60} : ____ mmol/l Na⁺_{RP60} : ____ mEq/l
K⁺_{RP60} : ____ mEq/l Ht_{RP60} : ____ % Lactatorp60 : ____ mmol/l
PAM_{RP60} : ____ mmHg Volum_{RP60} : ____ ml % VE_{RP60} : ____ %

Lâminarp60 Eosi : ____ Bast : ____ Segm : ____ Linf : ____ Mono : ____ Baso : ____ Linf atip : ____

10 – HISTOPATOLOGIA

Córtex renal : ____ PMN/campo

11 – OBSERVAÇÕES

VE - Volemia estimada FR - Frequência respiratória FC - Frequência cardíaca TR - temperatura retal PAM - Pressão arterial média DB - Diferença de base

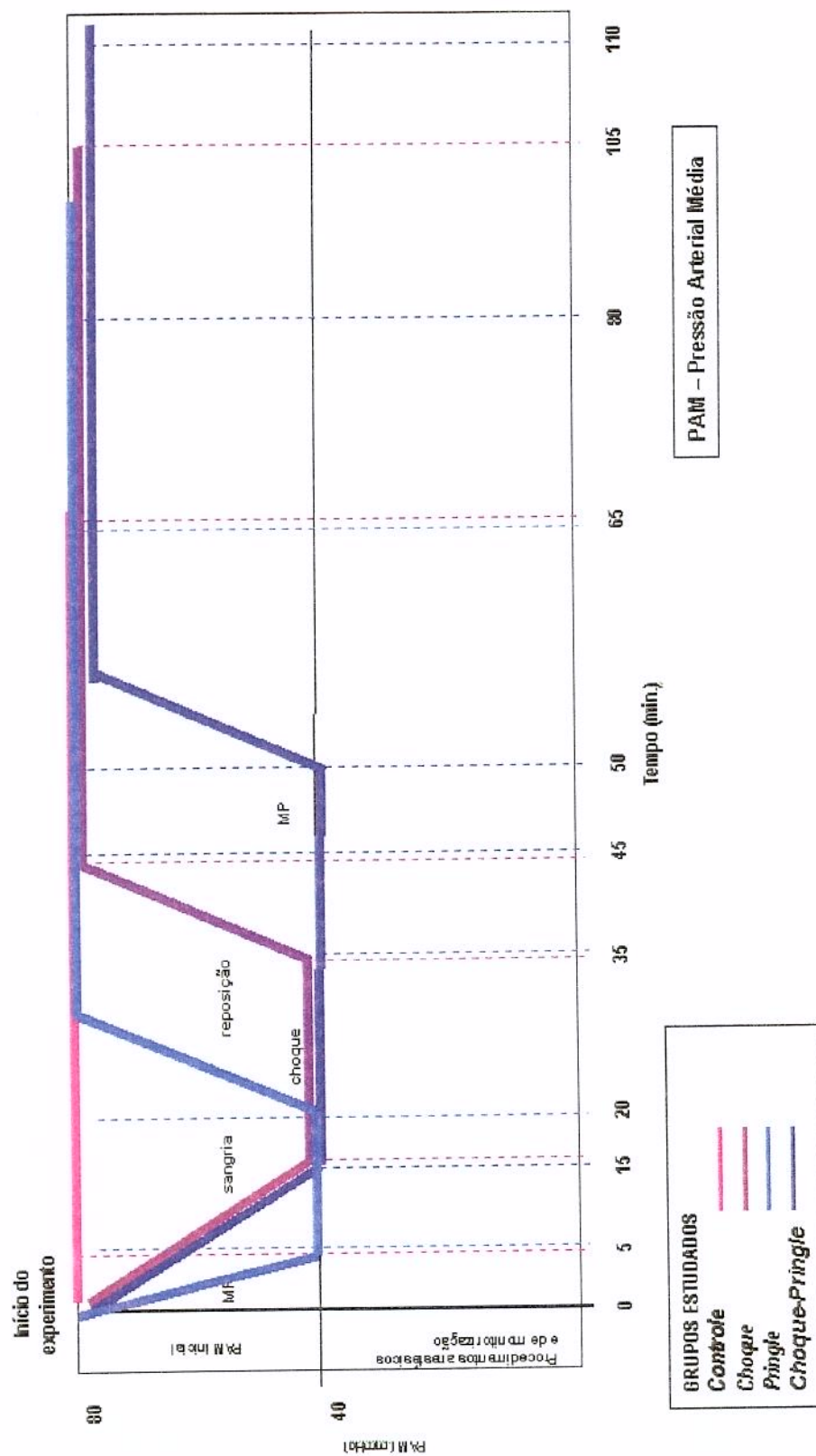
ANEXO 2 – Escala temporal dos grupos de animais estudados conforme os procedimentos realizados

PROCEDIMENTO (tempo em min.)	ANESTESIA	MONITORIZAÇÃO	SANGRIA	CHOQUE	REPOSIÇÃO	LAPAROTOMIA	PRINGLE	REPERFUSÃO	TEMPO TOTAL
GRUPO	05	45 *	15	20	10	05	15	60	
CONTROLE									115
CHOQUE									155
PRINGLE									130
CHOQUE- PRINGLE									175

* Tempo médio do procedimento

Gráfico do fluxo experimental

ANEXO 3 – Choque por hemorragia controlada. Tratamento com ringer lactato e sangue total (3 : 1).



ANEXO 4 – Distribuição dos animais conforme o grupo estudado

GRUPO	N.º	PESO (g)	VOLEMIA ESTIMADA (ml)	PAM (mmHg)	PMN/campo Córtex renal	ÓBITO
<i>C O N T R O L E</i>	01	190	10,9	136	0,2	Não
	02	185	10,0	88	0	Não
	03	195	10,6	124	0,2	Não
	04	195	10,6	130	0,2	Não
	05	205	11,0	100	0,2	Não
	06	225	12,2	136	0,9	Não
	07	210	11,3	108	0,1	Não
	08	205	11,0	128	0,1	Não
<i>C H O Q U E</i>	01	190	10,2	136	1	Não
	02	180	9,7	148	1,6	Não
	03	220	11,8	124	0,3	Não
	04	235	12,6	112	1,6	Não
	05	230	12,4	104	0,9	Não
	06	185	10,0	134	2	Não
	07	250	13,5	148	0,4	Não
	08	240	13	108	2	Não
<i>P R I N G I A L E</i>	01	215	11,6	112	0,1	Não
	02	220	11,9	140	0,3	Não
	03	195	10,6	156	0,3	Não
	04	200	10,8	124		Sim
	05	240	13,0	144	0,1	Não
	06	205	11,1	124	0,2	Não
	07	240	13,0	148	0,1	Não
	08	220	11,8	144	0	Não
<i>C H O Q U E / P R I N G I A L E</i>	01	200	10,8	136	0	Não
	02	180	9,8	146	-	Sim
	03	240	12,9	98	0,2	Não
	04	205	11,0	128	0,2	Não
	05	240	12,9	136	0,3	Sim*
	06	230	12,4	134	0,1	Não
	07	235	12,7	148	0,6	Não
	08	200	10,8	100	0,3	Não

* O óbito ocorreu nos 47' da reperfusão

ANEXO 5 – Valores normais das variáveis analisadas (Rato Wistar, macho).

Variável	Valor médio	variação
<i>Peso</i> (g)	262	182 – 301
<i>Volemia</i> (ml/100g peso)	5.59	5.15 – 6.03
<i>Sódio</i> (mEq/l)	140	124 – 156
<i>Potássio</i> (mEq/l)	4.3	3.5 – 5.1
<i>pH</i> (não anestesiado)	7.400	7.370 – 7.43
<i>pH</i> (anestesiado)	7.360	--
<i>pCO₂</i> (mmHg)	39.9	38.1 – 41.7
<i>HCO₃</i>		

