



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

SIMONE ALVES DOS SANTOS FERREIRA

**UM MODELO METABÓLICO E FATAL DE
CHOQUE HEMORRÁGICO EXPERIMENTAL**

**CAMPINAS
2018**

SIMONE ALVES DOS SANTOS FERREIRA

**UM MODELO METABÓLICO E FATAL DE
CHOQUE HEMORRÁGICO EXPERIMENTAL**

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciências, na área de Fisiopatologia Cirúrgica.

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCOS MELLO MOREIRA

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA SIMONE ALVES DOS SANTOS FERREIRA, E ORIENTADO PELO PROF. DR. MARCOS MELLO MOREIRA.

**CAMPINAS
2018**

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

F413m Ferreira, Simone Alves dos Santos, 1983-
Um modelo metabólico e fatal de choque hemorrágico experimental /
Simone Alves dos Santos Ferreira. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Marcos Mello Moreira.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Ciências Médicas.

1. Choque hemorrágico. 2. Ácido láctico. 3. Suínos. I. Moreira, Marcos
Mello. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: A fatal and metabolic experimental hemorrhagic shock

Palavras-chave em inglês:

Hemorrhagic shock

Lactic acid

swines

Área de concentração: Fisiopatologia Cirúrgica

Titulação: Mestra em Ciências

Banca examinadora:

Marcos Mello Moreira [Orientador]

Anibal Basile Filho

Bruno Monteiro Tavares Pereira

Data de defesa: 01-11-2018

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Cirurgia

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO
SIMONE ALVES DOS SANTOS FERREIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCOS MELLO MOREIRA

MEMBROS:

1. PROF. DR. MARCOS MELLO MOREIRA
 2. PROF. DR. ANIBAL BASILE FILHO
 3. PROF. DR. BRUNO MONTEIRO TAVARES PEREIRA
-

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 01/11/2018

DEDICATÓRIA

**Ao meu esposo, Evandro Luis Assis Ferreira, sempre presente,
o grande Amor da minha vida, sem ele nada seria possível.**

Aos filhos que Deus me presenteou, Víctor e Thamires.

**À minha Mãe, Elizabeth Alves da Costa
exemplo de dedicação e Amor.**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Giuseppe Giovanni Terzi, pelo incentivo, confiança, apoio e amizade, sendo o grande responsável por mais um degrau alcançado em minha vida.

Aos biólogos Willian Adalberto Silva e Ana Cristina de Moraes, pela colaboração, disponibilidade e amizade.

Ao amigo e orientador Marcos Mello Moreira, pelo apoio, amizade e incentivo nesta conquista.

RESUMO

Introdução: O pré-requisito para se avaliar a ressuscitação volêmica no choque hemorrágico, é um modelo experimental reproduzível levando a resultados previsíveis. Em ambos os modelos de choque, o controlado por pressão e o controlado por volume, a resposta fisiológica é heterogênea. O lactato no sangue tem se revelado um excelente marcador de perfusão tecidual. Nossa hipótese é de que um determinado valor de lactato no sangue seria um melhor parâmetro metabólico como expressão da gravidade do insulto fisiológico global. **Objetivo:** Avaliação do lactato como marcador metabólico de choque hemorrágico em um modelo experimental. **Método:** Catorze porcos jovens foram anestesiados com Ketamina, Atropina e intubados e mantidos em respiração espontânea com Halotano, nebulizado em ar atmosférico. Um cateter de artéria pulmonar #5 e cateteres femurais e jugulares foram inseridos para a medida do débito cardíaco e da pressão arterial média. Gases arteriais foram medidos no sangue arterial e venoso misto em todos os animais após estabilização fisiológica. O Grupo I (n=7) foi submetido à anestesia e à instrumentação, mas não foi sangrado. Dados hemodinâmicos e metabólicos foram coletados no período Pré-choque (T₀), 30 (T₁), 60 (T₂) e 120 minutos (T₃). Os animais do Grupo II (n=7) foram sangrados até se atingir uma pressão arterial média de 30mmHg no período de 30 minutos. A partir de então, o lactato no sangue arterial foi medido a curtos intervalos de tempo (utilizando um analisador rápido - Accusport, Boehringer Mannheim – que permite a leitura do lactato em 60 segundos em uma única gota de sangue). **Resultados:** Todos os animais do grupo I sobreviveram. Todos os animais do Grupo II morreram. Entretanto, nenhum óbito ocorreu antes que o lactato tivesse atingido 10mM/L. Com o lactato acima de 10mM/L todos os animais apresentaram acidemia grave, hiperventilação e Diferença de Base negativa assim como sinais clínicos de choque. Sem tratamento, todos os animais morreram após 70,43 (±24,51) minutos de hipotensão, em curto espaço de tempo após ter sido atingido um nível médio de lactato de 17,01 (±3,20) mM/L. **Conclusão:** Neste estudo conclui-se que o lactato arterial é um excelente e prático marcador de perfusão tecidual, podendo ser utilizado como *end-point* para início e avaliação da reposição volêmica, sugerindo um modelo metabólico de choque hemorrágico experimental.

Palavras-Chave: Choque hemorrágico; Ácido láctico; Suínos.

ABSTRACT

Background: A prerequisite to evaluate resuscitation of hemorrhagic shock are reproducible experimental models, leading to predictable outcome. In both fixed pressure and fixed volume protocols, metabolic response is heterogeneous. Blood lactate has been shown to be an excellent marker of low perfusion states. We hypothesized that a fixed level of blood lactate should be a more reliable end-point to begin resuscitation, as it expresses the severity of the global physiologic insult.

Methods: Fourteen immature swine were anesthetized with ketamine, atropine and intubated and maintained in spontaneous breathing with atmospheric air and halothane. A #5 Swan-Ganz pulmonary artery catheter as well as femoral artery and jugular vein catheters were inserted in order to measure cardiac output and mean arterial pressure. Blood gases and lactate were measured in arterial and mixed venous blood in all animals after catheter insertion and stabilization. Group I (n=7) were submitted to anesthesia and instrumentation but were not bled. Hemodynamic and metabolic data were recorded at Baseline, at 30, 60 and 120 minutes after Baseline. Animals in Group II (n=7) were bled to a MAP of 30mmHg in thirty minutes. Thereafter, arterial blood lactate was measured at short intervals (using a fast analyzer that permits reading lactate values within one minute in a single drop of blood - Accusport, Boehringer Mannheim). **Results:** All animals in group I survived. All animals in group II died. However, no mortality occurred before reaching a blood lactate level above 10mM/L. Beyond this end point all animals exhibited severe acidemia, hyperventilation and base deficit and clinical signs of shock. Without treatment all animals died within 70.43 (\pm 24.51) minutes of hypotension shortly after reaching an average level of blood lactate of 17.01 (\pm 3.20) mM/L. **Conclusion:** This study concluded that arterial lactate is an excellent and practical marker of tissue perfusion, and can be used as an end-point for the initiation and evaluation of volume replacement, suggesting a metabolic model of experimental hemorrhagic shock.

Key words: Hemorrhagic shock; Lactic acid; swines

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lactato arterial Grupo I – Controle (mM/L).....	20
Tabela 2. Lactato arterial Grupo II – Hipotensão (mM/L).....	21
Tabela 3. Variáveis metabólicas no Grupo I (Controle) e Grupo II (Hipotensão).....	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Lactímetro utilizado Accusport.....	18
Figura 2. Níveis de lactato arterial no Grupo Hipotensão Arterial.....	22
Figura 3. Tempo de hipotensão arterial antes do óbito	28

LISTA DE ABREVIATURAS

- CTRL** - Grupo Controle
- DB** - Diferença de Base
- PAM** - Pressão Arterial Média
- mmHg** - milímetros de mercúrio
- mM/L** - mili mol por litro
- pCO₂** - Pressão Parcial de Gás Carbônico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	16
3. MÉTODO.....	17
4. RESULTADOS.....	20
5. ESTATÍSTICA.....	24
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÃO	30
8. LIMITAÇÃO DO ESTUDO	31
9. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	32
10. REFERENCIAS.....	33
ANEXOS	36

1. INTRODUÇÃO

O choque hemorrágico é um dos tipos mais comuns de choque, sendo considerada a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes cirúrgicos e vítimas de trauma¹, e ocorre quando as perdas sanguíneas são superiores a 40% da volemia, causando redução do retorno venoso, redução do enchimento ventricular, redução do volume sistólico (débito cardíaco) e diminuição da perfusão tecidual, resultando em perfusão e oxigenação inadequadas. Como consequência, ocorre desequilíbrio entre a oferta e demanda de oxigênio tecidual, levando a distúrbios metabólicos e à morte celular.

Nas últimas décadas, inúmeros estudos foram realizados com o objetivo de se avaliar as repercussões fisiopatológicas do choque hemorrágico, com o objetivo de traçar estratégias terapêuticas de reposição volêmica que diminuam a morbidade e mortalidade. Estes estudos estão principalmente baseados em modelos experimentais com o uso de animais. No choque hemorrágico, a ressuscitação é completa quando a oferta de oxigênio é restabelecida, a acidose tecidual eliminada e o metabolismo aeróbico normalizado.

Experimentos realizados em laboratórios com animais sofrem algumas limitações quando comparados aos pacientes com choque hemorrágico. A remoção de sangue através de um cateter voltado para um determinado volume (sangramento controlado a volume) ou para uma determinada Pressão Arterial Média (PAM – sangramento controlado a pressão), pode não simular um sangramento que tenha cessado imediatamente², situação esta conhecida como hemorragia controlada, e também não simular um sangramento persistente causado por uma lesão vascular aberta, situação conhecida como sangramento não controlado³. Apesar destas limitações, o uso de um modelo experimental de choque hemorrágico tem seu valor, pois é capaz de induzir um estado de baixa perfusão por um período longo o suficiente para produzir os efeitos hemodinâmicos e metabólicos observados na maioria das graves hemorragias, podendo levar à morte do animal.

Foram os trabalhos pioneiros de Wiggers⁴, que instituíram um modelo de choque hemorrágico tendo a PAM como parâmetro. Neste modelo, o volume de sangue removido é controlado pelo nível de uma PAM previamente estabelecida (*end-point*), e mantida por remoção de sangue através de um cateter vascular. Este modelo

experimental de choque hemorrágico sofreu diversas variações em estudos posteriores, que foram chamados genericamente de modelos de Wiggers modificados, e tem sido o modelo experimental mais utilizado.

No choque hemorrágico experimental sob anestesia inalatória, dois fatores são responsáveis pela redução da PAM do animal: o primeiro fator é a hipovolemia produzida pelo sangramento, e o segundo fator é a influência dos agentes anestésicos inalatórios sobre a resistência vascular sistêmica e a contratilidade miocárdica. Dependendo da profundidade do plano anestésico inalatório, o modelo animal com sangramento controlado por PAM pode produzir animais com diferentes níveis de perfusão tecidual e, conseqüentemente, danos metabólicos variáveis às células, tecidos e órgãos⁵⁻⁹. A não homogeneidade do insulto em diferentes animais pode resultar em resultados não homogêneos para diferentes regimes de reposição volêmica ao se estudar o tratamento do choque hemorrágico.

No quadro de choque, a hipotensão arterial e a frequência cardíaca, parâmetros clínicos comumente utilizados, não refletem a exata extensão dos danos celulares resultantes do baixo fluxo ou da hipoxemia. Por este motivo, tem-se utilizado marcadores metabólicos de perfusão tecidual que possibilitem avaliar a extensão dos danos resultantes do insulto tecidual e a mortalidade¹⁰.

Atualmente dispomos de vários marcadores sistêmicos de perfusão tecidual, entre os quais podemos citar a Diferença de Base (DB), o gradiente venoarterial de pCO₂, o gradiente artério-venoso de pH, a oxigenação do sangue venoso misto e o lactato.

Nos estados de choque, o desequilíbrio ácido-base decorre da hipoperfusão tecidual, da hipoxemia e da disóxia celular provocando acidose, cujo fator primário é o ácido láctico¹¹, e cuja relação com a diferença de base é inversamente proporcional. Estes marcadores apresentam ótima correlação com a hipoperfusão tecidual.

Embora a diferença de base, a parada respiratória e a arritmia cardíaca tenham sido previamente relatados como pontos finais antes da reposição do volume¹²⁻¹⁴, acreditamos que os níveis de lactato no sangue são mais específicos para expressar o grau de anaerbiose induzida por um baixo estado de perfusão (hipoperfusão), além de ser possível a dosagem por lactímetros de bolso (*handheld*) com apenas uma gota de sangue¹⁵⁻¹⁷. Para o nosso conhecimento, este parâmetro

nunca foi usado anteriormente como um ponto final (*end-point*) em um modelo de choque hemorrágico experimental, a fim de estabelecer o ponto de partida para a reposição com fluidos.

Com base nessas premissas, pretendemos identificar um parâmetro que pudesse expressar o insulto fisiológico global sofrido pelo animal em estado de choque hemorrágico (*end-point*), diferenciando um estado de choque de um estado de hipotensão arterial.

2. OBJETIVOS

Este estudo teve por objetivo:

1. Avaliar o lactato como *end-point* para o estudo dos efeitos metabólicos e hemodinâmicos da terapêutica com reposição volêmica no choque hemorrágico;
2. Propor um modelo metabólico experimental de choque hemorrágico.

3. MÉTODO

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (CEEA UNICAMP – protocolo no. 163-1 – anexo 1).

1. Protocolo de estudo:

Foram utilizados porcos jovens (n=14), da raça Large-White, fêmeas, com peso entre 20 e 25 quilos. Todos os animais receberam 10mg/kg de ketamina^(A) e 0,5mg de atropina^(B) por via intramuscular. A seguir foram anestesiados, por indução e manutenção com Halotano^(C) nebulizado, inicialmente por máscara facial e, depois, por tubo oro-traqueal, sempre em respiração espontânea e com ar atmosférico.

Um cateter de Swan-Ganz número 5 pediátrico foi introduzido pela veia femoral direita, sendo, a sua ponta guiada até a artéria pulmonar.

Um cateter de polietileno número 6F foi introduzido pela artéria femoral direita cuja ponta foi guiada até a aorta abdominal.

Um cateter número 8F foi introduzido pela veia jugular esquerda e locado em veia cava superior.

A confirmação da correta localização dos cateteres foi realizada, sistematicamente, pela morfologia das curvas de pressão.

Cada cateter foi preenchido com uma solução heparinizada (soro fisiológico com cinco unidades de heparina por mililitro). O cateter femoral e o de Swan-Ganz foram conectados a eletromanômetros Medex^(D). O débito cardíaco e a pressão arterial foram obtidos por um monitor cardíaco^(E). Todas as medidas das pressões foram realizadas em posição supina e tiveram como ponto de referência zero, a linha médio-torácica do animal.

Foi utilizado um monitor multiparâmetro para a verificação do débito cardíaco, o qual foi obtido por termodiluição, pela injeção de soro glicosado a 5% a

^(A) Ketalar®, Parke-Davis & Co. Guarulhos, SP

^(B) Ariston, São Paulo, SP

^(C) Zeneca Farmacêutica do Brasil Ltda, Cotia, SP

^(D) Medex, Hilliard, Ohio

^(E) BESE, Belo Horizonte, MG

^(F) Boehringer Mannheim, Asta Medica, São Paulo, SP

uma temperatura inferior a cinco graus centígrados. A temperatura central foi obtida diretamente pelo termistor do cateter de Swan-Ganz locado em artéria pulmonar.

Amostras de sangue foram coletadas da artéria femoral para as determinações laboratoriais do sangue arterial e venoso misto. Após o descarte do fluido ocupando o espaço morto dos cateteres, o sangue arterial e o venoso misto foram colhidos em seringas heparinizadas para a gasometria e a determinação do lactato no sangue. As amostras de sangue foram processadas de imediato, a 38 graus centígrados em equipamento IL-1640 e automaticamente corrigidos para a temperatura central do animal. O lactato foi medido em equipamento simples (Accusport® - Figura 1) e que permite a leitura do lactato em um minuto e a partir de uma única gota de sangue¹⁵⁻¹⁷.

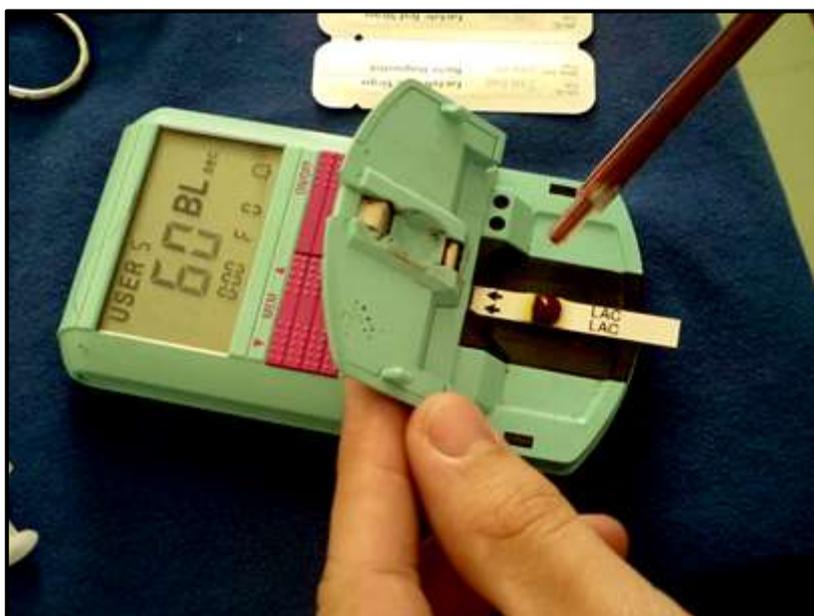


Figura 1. Lactímetro utilizado Accusport®. (F)

2. Os Grupos:

Os animais (n=14) foram divididos em 2 grupos:

GRUPO I (n=7) – grupo CONTROLE – CTRL: Neste grupo os animais foram submetidos à anestesia (Halotano inalatório a 0,5%) e colocação dos cateteres, sem sangramento. Registro das variáveis hemodinâmicas e coleta de sangue para gasometria arterial e venosa e determinação do lactato no sangue nos tempos T₀ (baseline), T₁ (30 minutos), T₂ (60 minutos) e T₃ (120 minutos).

GRUPO II (n = 7) – grupo HIPOTENSÃO – HIPO: Neste grupo os animais foram submetidos à anestesia (Halotano inalatório a 0,5%) e colocação dos cateteres, e foram submetidos a sangramento até se obter uma pressão arterial média de 30mmHg. A pressão arterial foi mantida nesse nível, reduzindo a concentração de Halotano para 0,5% e removendo sangue adicional se necessário. O nível de lactato no sangue foi registrado no início do experimento e em curtos intervalos de tempo, variando de 15 a 30 minutos, até a morte do animal e nenhuma outra intervenção foi feita. O tempo de morte foi gravado após o início da hipotensão e após o último lactato medido.

3. O Experimento:

Através do cateter locado em veia jugular esquerda foi feita a retirada de sangue dos animais do grupo II (hipotensão). A retirada de sangue em 15 a 20 minutos reduziu a PAM para 30 mmHg. A redução do Halotano de um para 0,5% possibilitou a retirada de maior volume de sangue, mantendo a PAM estável em 30mmHg. O volume total de sangue retirado foi, em média, 40ml/Kg, apresentando pequenas variações de acordo com as respostas fisiológicas do animal ao sangramento.

Análises sucessivas de lactato pelo Accusport foram realizadas respeitando os tempos estipulados (T_0 , T_1 , T_2 e T_3) para o Grupo I (Controle) e em curtos intervalos de tempo a partir da PAM de 30mmHg até a morte para os animais no grupo II (Hipotensão).

4. RESULTADOS

O artigo referente a esta Dissertação já se encontra publicado [Ferreira SADS, Moraes AC, Terzi RGG, Ferreira ELA, Silva WA, Moreira MM. A fatal and metabolic experimental hemorrhagic shock in immature swine. Acta Cir Bras. 2017;32(12):1036-1044. doi: 10.1590/s0102-865020170120000005].

No Grupo I, todos os animais sobreviveram ao procedimento.

Os níveis de lactato se mantiveram constantes durante todo o período de 120 minutos, sem diferença estatística entre os diferentes tempos.

Os resultados do lactato sanguíneo nos animais do Grupo Controle são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Lactato arterial Grupo I – Controle (mM/L)

	lactato	lactato	lactato	lactato
Animal / tempo	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
Controle 1	1,3	1,0	1,0	1,0
Controle 2	1,1	1,1	0,9	1,1
Controle 3	1,6	2,3	1,9	1,9
Controle 4	2,4	1,8	1,7	1,9
Controle 5	2,0	2,3	2,3	2,0
Controle 6	3,0	2,7	2,2	1,9
Controle 7	2,0	1,8	2,0	1,4
Média	1,91	1,86	1,71	1,60
Desvio padrão	0,65	0,63	0,56	0,42

No Grupo II, todos os animais morreram.

Os animais permaneceram com uma PAM constante (30mmHg) durante o experimento, e apresentaram uma grande variabilidade no tempo para atingir os níveis de lactato elevado que culminou com a morte (Tabela 2). Quanto maior a medida do lactato, maior a chance de evoluir para o óbito.

Tabela 2. Lactato arterial Grupo II – Hipotensão (mM/L)

	lactato	lactato	lactato	lactato	lactato	lactato	T ₁	T ₂
Animal / tempo	0'	15'	30'	45'	60'	90'		
Hipotensão 1	2	---	5,1	---	8,4	21,1	95'	5'
Hipotensão 2	3,7	---	11,9	---	20,7	óbito	90'	60'
Hipotensão 3	1,3	---	2,4	4,3	7,9	13,3	97'	5'
Hipotensão 4	2,5	---	10,9	18,5	óbito	---	46'	16'
Hipotensão 5	2,1	---	9,1	14,5	16,7	óbito	65'	20'
Hipotensão 6	1,2	3,7	5,7	---	14,6	óbito	65'	5'
Hipotensão 7	2,7	5,2	14,1	óbito	---	---	35'	5'
Média	2,21	4,45	8,43	12,43	13,66	17,20	70,43	16,86
Desvio padrão	0,86	1,06	4,18	7,32	5,49	5,52	24,51	19,96

(T₁): tempo de óbito após atingir PAM 30mmHg

(T₂): tempo de sobrevivência após atingir lactato médio de 10mM/L

(---): sem coleta da dados

Os animais, após terem atingido a PAM de 30mmHg, apresentaram um aumento imediato da pressão arterial média assim que o Halotano foi reduzido de 1 para 0,5%, de modo que foi possível remover uma quantidade adicional de sangue. Esta manobra foi essencial para manter a PAM estável e induzir um estado inicial de baixa perfusão e acidose láctica.

Neste grupo, todos os animais atingiram níveis de lactato acima de 10mM/L. O lactato foi monitorado a intervalos variáveis durante o período hipotensivo como mostrado na Tabela 2, cujos dados apresentados mostram a evolução dos níveis sanguíneos de lactato durante a hipotensão grave persistente, bem como o último nível de lactato no sangue registrado antes da morte do animal, o tempo de hipotensão antes da morte e o tempo de sobrevivência de cada animal após atingir um lactato sanguíneo superior a 10mM/L. Os níveis de lactato sanguíneo determinados no início do estudo, antes do sangramento, não diferiram estatisticamente dos níveis basais medidos no Grupo Controle.

Nestes animais, foi observada uma resposta metabólica precoce, uniforme e sistemática. Os animais apresentaram deterioração hemodinâmica progressiva, expressa por uma redução progressiva do PAM, e também apresentaram sinais físicos e hemodinâmicos precoce da hipoperfusão, como arritmia, taquipnéia e presença de manchas isquêmicas e violáceas na parede abdominal. Neste momento,

invariavelmente, o lactato sanguíneo era superior a 10mM/L e os animais morreram logo após disso. A morte ocorreu devido a uma queda progressiva e acentuada da PAM, arritmia ventricular e/ou dissociação eletromecânica. Todos os animais morreram e todos apresentaram sinais clínicos de choque e um lactato sanguíneo que variou de 13,3 a 21,12 mM/L pouco antes da morte (Figura 2).

Nenhum animal foi ressuscitado por meio de administração de fluidos, drogas ou manobras de Ressuscitação Cardiopulmonar, porque o objetivo deste trabalho foi avaliar um modelo metabólico fatal de choque hemorrágico.

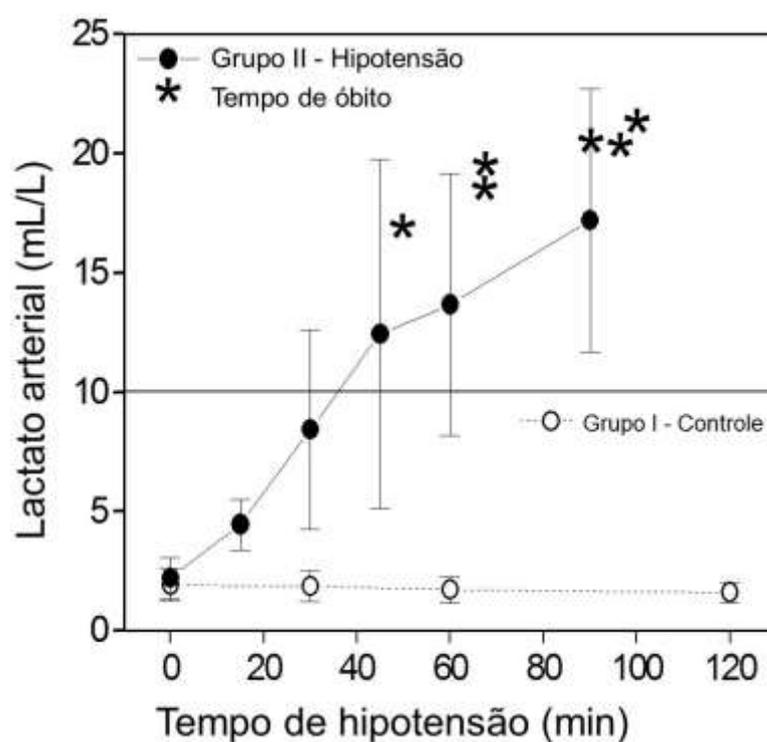


Figura 2. Níveis de lactato arterial no Grupo Hipotensão Arterial (valores > 10 mmol/L)

Tabela 3. Variáveis metabólicas no Grupo I (Controle) e Grupo II (Hipotensão)

	Grupo I - Controle		Grupo II - Hipotensão	
	basal	120'	basal	Lactato máx
Diferença de base – mM/L	3,50±3,33	4,41±2,26	2,25±1,71	-18,34±5,8
Lactato – mM/L	1,9±0,65	1,6±0,42	2,21±0,86	17,01±3,20
Mortalidade pré PAM 30mmHg	(0/7)		(0/7)	
Mortalidade pós 24 horas	(0/7)		(7/7)	

Basal: dados coletados após preparo e estabilização

120': dados coletados duas horas após basal

Lactato máx: dados registrados quando o nível máximo de lactato foi registrado antes do óbito

5. ESTATÍSTICA

Para verificar a influência da variável lactato no tempo de sobrevida foi utilizado a Análise de Regressão de Cox com co-variáveis dependentes no tempo. Este tipo de análise utilizada em estudos de sobrevida é uma adaptação do modelo de regressão múltipla com incorporação de dados censurados, onde a variável dependente é o tempo até a ocorrência de um determinado evento.

Para verificar a influência da variável lactato no óbito, foi utilizada a análise de regressão logística para resposta dicotômica – modelo logito.

6. DISCUSSÃO

Em um projeto de pesquisa¹⁸ cujo principal interesse foi comparar diferentes soluções para ressuscitar animais submetidos a um modelo de choque padronizado, ao tentar estabelecer um modelo experimental, observamos que houve uma grande variabilidade no padrão hemodinâmico e metabólico em nossos animais anestesiados quando submetidos a choque hemorrágico controlado por PAM. Assim, alguns animais apresentaram parada respiratória, ou arritmia cardíaca seguida de bradicardia e dissociação eletromecânica, culminando com parada cardíaca irreversível e óbito. Esses achados foram relatados anteriormente¹⁹. Por outro lado, os animais sobreviventes, apresentaram alterações variáveis do perfil metabólico no sangue, expressas pela diferença de base ou pelo lactato. O mesmo aconteceu quando um volume de sangue previamente estabelecido (com base no peso corporal) foi removido. Em outras palavras, os animais sobreviventes em choque hemorrágico, guiados por PAM ou por volume predeterminado, não apresentaram mudanças significativas e reprodutíveis no DB ou nos níveis de lactato no sangue. Nossa hipótese para esses achados foi que diferentes níveis de profundidade de anestesia (plano anestésico) poderiam influenciar a PAM e, com isso, a perfusão tecidual, causando uma situação de hipotensão arterial ou estado hipotensivo onde, apesar de apresentar uma PAM baixa, a circulação e a perfusão tecidual são suficientes para o suprimento de oxigênio e substratos, assim como a remoção dos catabólitos.

Neste estudo realizado em nosso laboratório com modelos experimentais de choque hemorrágico, observamos que a mortalidade dos animais submetidos a sangramentos e mantidos a uma PAM de 30mmHg por um período fixo era variável, e dependia, fundamentalmente, do nível da anestesia (plano anestésico). Assim, enquanto alguns animais apresentaram alterações clínicas de choque, elevação dos níveis de lactato e evoluíram com parada respiratória ou bradicardia no início do período hipotensivo, chegando a morrer logo após esses graves episódios de instabilidade cardiopulmonar, outros animais sobreviveram após várias horas de hipotensão quando submetidos a anestesia mais profunda (plano anestésico profundo), não apresentaram sinais clínicos de choque e nem elevação dos níveis de lactato e, finalmente, sobreviveram. Estas observações nos levaram a acreditar que a PAM, utilizada de forma isolada, não seria um bom marcador de insulto fisiológico,

pois ela sofria interferência da profundidade da anestesia, situação que não ocorria com o lactato, pois o mesmo não se alterava em situações de PAM baixas em grupos de animais com anestesia profunda, se alterando apenas em grupos de animais com plano anestésico superficial, com a mesma PAM baixa.

Em outra observação também realizada neste estudo nos mesmos tipos de animais submetidos a anestesia profunda, a remoção de um volume de sangue igual a 40% do peso corporal resultou em alta mortalidade precoce, com apneia ou arritmia, quando o sangue foi removido em um período de trinta minutos. Para reduzir esta mortalidade precoce, o mesmo volume de sangue foi então removido em 90 minutos. Mesmo com o tempo prolongado, a mortalidade ainda era elevada (40% dos animais) antes de atingir 90 minutos de hipotensão. Por outro lado, a maioria dos animais que sobreviveram ao período de 90 minutos de hipotensão não apresentou acidose láctica grave, e sobreviveu durante 24 horas sem tratamento após o experimento.

Essas observações nos alertaram sobre o fato de que o determinante da morte nesses animais era multifatorial. A arritmia e parada respiratória na fase inicial em ambas as situações de hipotensão controlada por pressão ou volume retirado, foram atribuídas a uma depressão do centro respiratório pela associação de hipotensão e anestesia. Os agentes anestésicos, induzindo vasodilatação sistêmica, determinariam uma hipotensão mais pronunciada sem, no entanto, reduzir a perfusão tecidual e a oxigenação celular. A expressão de hipotensão, mas com perfusão tecidual não crítica, resultou em acidose láctica menos grave.

O modelo de choque hemorrágico experimental controlado por pressão (PAM) ou o modelo de choque controlado por volume não garantem estado de anaerbiose sistemática e mortalidade de todos os animais envolvidos.

Dronen e col.,¹² estudando porcos jovens, enfatizaram a importância de atingir um objetivo (*end-point*) que poderia expressar o grau de insulto fisiológico, assim como a parada respiratória ou a arritmia cardíaca. No entanto, em nossa experiência, esse objetivo, embora associado à morte do animal quando não tratado, nem sempre é associado por acidose láctica significativa. Além disso, as tentativas de tratar um animal em insuficiência respiratória ou exibindo arritmia grave podem não ser bem-sucedidas, pois são expressões de quase irreversibilidade do choque hemorrágico.

A necessidade de monitorar alguma variável que expressasse o dano celular foi inicialmente colocada por Dunham et al.²¹ usando métodos estatísticos de probabilidade. Usando uma estatística de probabilidade (Kaplan-Meier modificada), esses autores compararam a acidemia láctica e o déficit de base metabólica com as variáveis hemodinâmicas convencionais da pressão arterial e do débito cardíaco como marcadores de insulto fisiológico e preditor de mortalidade que demonstram sua superioridade. No entanto, em uma predição combinada de ambos, lactato e DB, o lactato (acidemia láctica) se mostrou superior.

Davis¹³ e Davis et al.¹⁴ sugeriram que o déficit de base poderia ser usado como indicador da gravidade do choque e adequação da ressuscitação quando o monitoramento invasivo não era viável. Eles observaram que, entre outras variáveis, DB seria o melhor parâmetro para avaliar o déficit de volume.

Schultz et al.²², a fim de comparar diferentes tipos de reposição volêmica em choque hemorrágico, utilizaram a DB como um parâmetro sensível de perfusão inadequada antes do início da reposição. Seu *endpoint* era uma DB de -13 ± 1 mM/L antes do início da ressuscitação. De fato, Davis¹³ e Davis et al.¹⁴ consideraram que o lactato, assim como a DB, seriam marcadores igualmente sensíveis para expressar o dano fisiológico determinado pelo choque hemorrágico e para avaliar a resposta à substituição do fluido. Eles encontraram uma forte correlação linear entre essas duas variáveis ($R = -0,794$). Em nosso experimento, também observamos correlação entre a DB e o lactato (Tabela 3).

O argumento de que a DB é obtida com mais facilidade do que os níveis de lactato já não se justifica em nosso modelo, porque o lactato pode ser facilmente medido quase que em tempo real por um aparelho portátil (lactímetro de bolso). O lactímetro usado em nosso experimento foi o Accusport® que determina o lactato com apenas uma gota de sangue e com resposta em um minuto^{17,18}.

O uso de Accusport® para as determinações em série do lactato sanguíneo permitiu monitorar a anaerobiose através de acidose láctica em intervalos pequenos, a cada 5 (cinco) minutos. Com isto, conseguimos estabelecer que, para os suínos jovens, o lactato sanguíneo de corte de 10mM /L pode prever a morte se nenhum tratamento for instituído¹⁸. Este modelo poderia ser criticado porque a amostra é pequena e é possível que em uma população maior poderíamos provar ter

sobreviventes não tratados que atingiram o lactato sanguíneo em 10mM/L e esta limitação pode não ser desconsiderada.

Os resultados deste estudo permitiu o uso deste modelo metabólico de choque hemorrágico experimental para avaliar a reposição de volume com diferentes fluidos, tais como lactato Ringer, colóides e solução hipertônica. O ponto final para iniciar a ressuscitação (*end-point*) com o volume foi estabelecido como lactato 10mM/L no sangue arterial, independentemente da quantidade de volume de sangue removido, do nível de pressão arterial média ou da duração da hipotensão. A fim de simular o choque hemorrágico humano após o trauma e reduzir o tempo de hipotensão necessária para atingir esse objetivo, foi necessário estabelecer um nível superficial de anestesia para permitir sangramento adicional e manter a pressão arterial média em torno de 30mmHg. Este modelo permitiu alcançar níveis de lactato acima de 10mM/L em um período variável de 30 a 90 minutos. De fato, o lactato sanguíneo dos animais seguindo este protocolo mostrou que um limite médio de lactato de $17,01 \pm 3,20$ mM/L foi atingido pouco antes do óbito, ocorrendo $70,43 \pm 24,51$ de hipotensão antes do óbito (Figura 3).

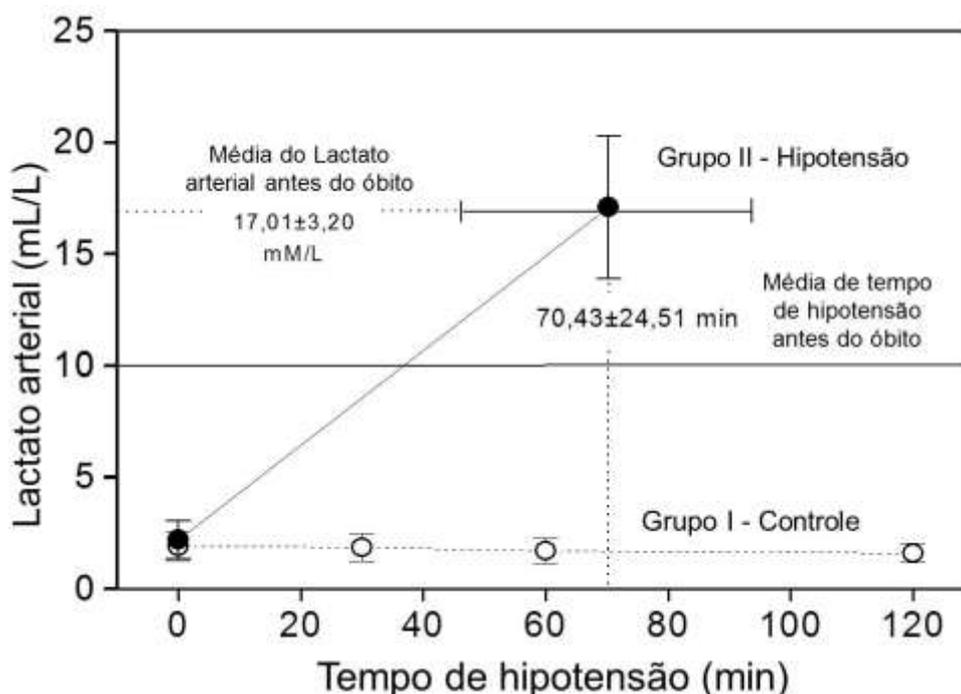


Figura 3. Tempo de hipotensão arterial antes do óbito

Esta é provavelmente uma melhor simulação do tempo necessário para que humanos desenvolvam um choque grave e hemorrágico pré-óbito. Espera-se que o resultado previsível deste modelo de choque hemorrágico produza informações consistentes com base em possíveis padrões metabólicos e hemodinâmicos diferentes quanto ao tipo de fluido e o momento da ressuscitação em uma situação de choque hemorrágico quase fatal.

7. CONCLUSÃO

Neste estudo, concluímos que os animais submetidos a choque hemorrágico e não tratados quando o lactato atingir 10mM/L resulta fatal.

O lactato arterial é um excelente e prático marcador de perfusão tecidual, sugerindo um modelo metabólico de choque hemorrágico experimental, podendo ser utilizado como *end-point* para início e avaliação da reposição volêmica no choque hemorrágico, uma vez que observamos que a PAM pode ter influências da anestesia e não representar um quadro de choque, podendo comprometer, desta forma, os resultados obtidos. Sugerimos que sejam utilizados ambos, lactato e PAM, como parâmetros de choque hemorrágico experimental.

8. LIMITAÇÃO DO ESTUDO

Reconhecemos que o uso do anestésico Halotano está proscrito tendo em vista os efeitos depressores que ele promove sobre o sistema cardiorrespiratório, porém, na ocasião em que o estudo foi realizado, este era amplamente utilizado.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

Consideramos, para estudos futuros, manter o atual método e, utilizar o anestésico Isoflurano.

10. REFERENCIAS

1. A. Fülöp Z, Turóczy D, Garbaisz L, Harsányi A, Szijártó. Experimental Models of Hemorrhagic Shock: A Review. *Eur Surg Res* 2013;50:57-70
2. Carroll RG, Iams SG, Pryor WHJ, Allison EJJ. Single hemorrhage: a clinically relevant canine model of hemorrhagic shock. *Resuscitation*. 1988; 16(2):119-26.
3. Capone A, Safar P, Stezoski SW, Peitzman A, Tisherman S. Uncontrolled hemorrhagic shock outcome model in rats. *Resuscitation*. 1995; 29(2):143-52.
4. Wiggers CJ. *Physiology of Shock*. New York Commonwealth Fund, 1950; 121-146.
5. Chahine R, Cheav SL, Nguyen VT. Effects of corticoadrenal extract on haemorrhagic shock- induced perturbation of systemic haemodynamics and general metabolism in anesthetized dogs. *Arzneimittelforschung*. 1990; 40(6):654-6.
6. Ahlgren I, Aronsen KF, Björkman I. The effect of halothane on the distribution of cardiac output and organ blood flows in the hemorrhagic, hypotensive dog. *Acta Anaesthesiol. Scand*. 1978; 22(2):108-16.
7. Farnebo LO, Hallman H, Hamberger B, Jonsson G. Catecholamines and hemorrhagic shock in awake and anesthetized rats. *Circ. Shock* 1979; 6(2):109-18.
8. McGown RG. A technique of anaesthesia in haemorrhagic shock. Illustrative case histories and a discussion. *Anaesthesia* 1975; 30(5):616-23.
9. Fontelles MJ, Mantovani M, Hirano ES, Morandin RC. Investigating the relationship between hemodynamic and metabolic parameters in portal triade occlusion following hemorrhagic shock. *Acta Cir Bras* 2005;20(1): 22-7.
10. Meregalli A, Oliveira RP, Friedman G. Occult hypotension is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients. *Crit Care* 2004 8:60-5.

11. Terzi RGG. Acidose láctica no paciente hemodinamicamente instável. In: Monitorização hemodinâmica e suporte cardiocirculatório do paciente crítico. 1995 São Paulo, Editora Atheneu.
12. Dronen SC, Stern S, Baldursson J, Irvin C, Syverud S. Improved outcome with early blood administration in a near- fatal model of porcine hemorrhagic shock. *Am J Emerg Med* 1992;10(6):533-7.
13. Davis JW. The relationship of base deficit to lactate in porcine hemorrhagic shock and resuscitation. *J Trauma* 1994;36(2):168-72.
14. Davis JW, Shackford SR, Holbrook TL. Base deficit as a sensitive indicator of compensated shock and tissue oxygen utilization. *Surg Gynecol Obstet* 1991;173(6):473-6.
15. Brinkert W, Rommes JH, Bakker J. Lactate measurements in critically ill patients with a hand-held analyzer. *Intensive Care Med* 1999; 25:966.
16. Slomovitz BM, Lavery RF, Tortella BJ, Siegel JH, Bachl BL, Ciccone A. Validation of a hand-held lactate device in determination of blood in critically injured patients. *Crit Care Med* 1998;26:1523.
17. Terzi RGG, Alvim CF, Oliveira WC, Moraes VSC, Batista ERN. Avaliação de um lactímetro de bolso no choque hemorrágico experimental. *Rev Bras Ter Intens* 1998;10:42.
18. Ferreira EL, Terzi RG, Silva WA, de Moraes AC. Early Colloid Replacement Therapy in a Near-Fatal Model of Hemorrhagic Shock. *Anesth Analg* 2005;101:1785-91.
19. Becker H, Hottenrott C, Seufert RM, Gerstenbergk L. Experiences with the hemorrhagic shock in immature pigs. *Res. Exp. Med. (Berl.)* 1977; 170(2):125-31.
20. Vivaldi E, Macinelli S, Günther B. Experimental hemorrhagic shock in dogs: standardization. *Res Exp Med* 1983;182(2):127-37.
21. Dunham CM, Siegel JH, Weireter L, Fabian M, Goodarzi S, Guadalupi P, et al. Oxygen debt and metabolic acidemia as quantitative predictors of mortality and the severity of ischemic insult in haemorrhagic shock. *Crit Care Med* 1991;19:231-43.

22. Schultz SC, Hamilton INJ, Malcolm DS. Use of base deficit to compare resuscitation with lactated Ringer's solution, Haemaccel, whole blood, and diaspirin cross-linked hemoglobin following hemorrhage in rats. *J Trauma* 1993; 35(4):619-25.

ANEXOS

a) Protocolo Comissão de Ética na Experimentação Animal - CEEA



UNICAMP

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

**Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP**

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 163-1, sobre "Influência do Plano Anestésico no Hemio-metabolismo do Choque Hemorrágico Experimental"

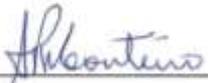
sob a responsabilidade de Ana Cristina de Moraes e Prof. Dr. Renato Esp. Terzi está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 07.10.1.2002. Este certificado expira em 06.10.1.2003.

CERTIFICATE

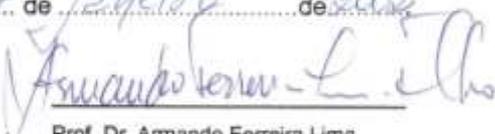
We certify that the protocol nº 163-1, entitled ".....", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on 07.10.1.2002. This certificate expires on 06.10.1.2003.

(d) (m) (y)

Campinas, 07 de dezembro de 2002



Profa. Dra. Alba R. M. Souza Brito
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP



Prof. Dr. Amando Ferreira Lima
Secretário - CEEA/IB/UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIDADE UNIVERSITÁRIA ZEPERINO VAZ
CEP - 13141-970 - CAMPINAS - SP - BRASIL

TELEPHONE 55 19 37887116
FAX 55 19 32893134