



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

MIRIELY STEIM DINIZ

**AVALIAÇÃO DO HIDROXIETILAMIDO DE TERCEIRA GERAÇÃO
("TETRASTARCH") EM RELAÇÃO AO RINGER LACTATO COMO FLUIDO DE
REPOSIÇÃO VOLÊMICA EM CÃES SUBMETIDOS À HEMODILUIÇÃO
NORMOVOLÊMICA AGUDA**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Anestesiologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Teixeira Neto

**Botucatu
2017**

MIRIELY STEIM DINIZ

AVALIAÇÃO DO HIDROXIETILAMIDO DE TERCEIRA GERAÇÃO
("TETRASTARCH") EM RELAÇÃO AO RINGER LACTATO COMO FLUIDO DE
REPOSIÇÃO VOLÊMICA EM CÃES SUBMETIDOS À HEMODILUIÇÃO
NORMOVOLÊMICA AGUDA

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista "Júlio de Mesquita Filho",
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em
Anestesiologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Teixeira Neto

Botucatu
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Diniz, Miriely Steim.

Avaliação do hidroxietilamido de terceira geração ("Tetrastarch") em relação ao Ringer Lactato como fluido de reposição volêmica em cães submetidos à hemodiluição normovolêmica aguda / Miriely Steim Diniz. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Francisco José Teixeira Neto
Capes: 40102130

1. Cães. 2. Rins - Doenças. 3. Insuficiência renal aguda.
4. Sangue - Coagulação. 5. Derivados de hidroxietil amido.
6. Hemodiluição.

Palavras-chave: Cães; Coagulação sanguínea; Hemodiluição normovolêmica aguda; Hidroxietilamido; Lesão renal aguda.

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo Pedro Coelho Oliveira,

Aos meus pais Ronaldo e Ramona e a minha irmã Anielly

Aos cães: Havana, Petite, Little, Cookie, Caramelo, Nero, Ben e Moka.

AGRADECIMENTOS

À Deus por se fazer presente em todos os momentos da minha vida.

Ao meu esposo, Pedro que esteve presente em todos os momentos, pela paciência em suportar a distância e mesmo assim ser capaz de me incentivar a ir em busca dos meus sonhos. Obrigada por não poupar esforços para nos encontrarmos. Com você tudo fica mais fácil.

À minha família: pai, mãe e Ani, minha maior fortaleza, a qual me ensinou e cultivou os meus melhores sentimentos: amor, amizade, reciprocidade, lealdade, conforto, incentivo, fé.

Ao meu orientador Francisco José Teixeira Neto, pela amizade, pelo companheirismo, e por todos os ensinamentos, transmitidos nestes cinco anos de trabalho (mestrado e doutorado). Obrigada por acompanhar cada etapa do meu amadurecimento científico, e pelas boas influências em muitas das minhas condutas profissionais.

À FAPESP, pelo apoio financeiro (Processo 2015/04810-2).

À equipe: Ana Carolina, Nathalia, Mariana, Carol, Daniele e Brayan. Obrigada pela ajuda, pela amizade e pelo companheirismo na execução deste projeto.

À Profa. Regina Kiomi Takahira, por todo o apoio científico na parte da hemostasia, desde o fechamento do delineamento experimental até o desenvolvimento do mesmo. Obrigada por sempre ser solícita em ajudar e por gentilmente ter cedido o laboratório de hemostasia e a biblioteca.

Aos meus amigos colombianos: Nathália e Brayan, que tornaram os meus dias em Botucatu mais alegres.

À equipe do laboratório clínico, por todos os exames realizados.

Aos funcionários: Neli, Evandro, Adriana, Clara, Leo, Jorgete, Marta e Maria que foram agradáveis e me ajudaram no que podiam.

A Tatiane que sempre foi muito gentil e solícita em ajudar a resolver as questões burocráticas.

À Maria Regina Morreto que me recebeu gentilmente no seu laboratório e auxiliou na realização dos testes de ELISA.

À Vani que me auxiliou com o relatório financeiro da FAPESP.

Ao Dietrich, Silvana e o Pedrinho por me receberem tão bem. Obrigada pela amizade e carinho.

Minha eterna gratidão aos pointers: Havana, Petite, Nero, Cookie, Caramelo e Little pela fundamental participação neste estudo. Pela recepção calorosa e pelos dias alegres que passamos juntos no canil. Sou grata em ter cuidado e assim poder vê-los crescer durante estes cinco anos.

EPÍGRAFE

“Tudo evolui; não há realidades eternas: tal como não há verdades absolutas”.

Nietzsche

RESUMO

DINIZ, M. S. **Avaliação do hidroxietilamido de terceira geração (“Tetrastarch”) em relação ao ringer lactato como fluido de reposição volêmica em cães submetidos à hemodiluição normovolêmica aguda.** Botucatu, 2017. 155 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Justificativa: Coloides sintéticos como o “Tetrastarch” (TS), quando comparados aos cristaloides isotônicos, são expansores volêmicos mais eficazes e minimizam o risco de edema tecidual. Entretanto, o TS pode causar efeitos adversos sobre a coagulação e, em pacientes sépticos, pode aumentar o risco de injúria renal aguda e morte.

Hipóteses: Formularam-se as hipóteses de que, em cães saudáveis, a HNA com TS não resultaria em evidência de IRA; enquanto que a inibição da coagulação induzida por este coloide seria ao menos equivalente a produzida pelo Ringer Lactato (RL). A HNA com TS, quando comparada a HNA com RL, resultaria em menor acúmulo de água extravascular pulmonar e menor incidência de edema periférico.

Materiais e Métodos: Seis cães (19,7–35,3 kg) foram anestesiados durante 7 horas com isoflurano/remifentanil em 3 ocasiões. Na primeira ocasião (Fase I), os animais não foram submetidos a HNA (controle). Na Fase II, iniciada após intervalo > 2 semanas do término da Fase I, os cães foram anestesiados em 2 ocasiões para realização de HNA, em um modelo experimental randomizado (intervalo > 8 semanas). Em cada procedimento, o sangue removido foi repostado com RL ou TS, (3 mL de RL ou 1 mL de TS para cada 1 mL de sangue removido), durante 60 minutos, visando reduzir o hematócrito para 33%. A anestesia foi mantida por 4 horas após a reposição volêmica (RV). As variáveis cardiorrespiratórias foram coletadas no momento BL (basal, antes da HNA), 0,5, 1, 2, 3 e 4 horas após a RV. Os biomarcadores de IRA (NGAL, creatinina) foram mensurados no momento BL, 4, 24 e 72 horas após a RV. A hemostasia foi avaliada no momento BL, 0,5, 2, 4 e 24 horas após a RV.

Resultados: No tratamento TS, o índice de água extravascular pulmonar (EVLWI), observado a 1 hora após a RV, foi significativamente menor ($P < 0,05$) em relação ao controle. As 4 horas após a RV, o EVLWI no tratamento TS foi significativamente menor em comparação ao tratamento RL. A relação pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio não diferiu entre tratamentos ($P > 0,05$) entre 0,5–4 horas após a RV. Edema de cabeça foi observado em 3/6 cães somente no tratamento RL. A relação lipocalina associada a gelatinase neutrofílica/creatinina urinária não diferiu entre os tratamentos e manteve-se abaixo do limite para detecção de IRA (120.000 pg/mg) durante 72 horas após a RV. O tempo de formação do coágulo aumentou significativamente em relação ao controle por um período mais prolongado no tratamento RL (entre 0,5–4 horas após a RV) do que no tratamento TS (entre 0,5–2 horas após a RV). A firmeza máxima do coágulo se reduziu significativamente em relação ao controle por um período idêntico para ambos os fluidos (entre 0,5–4 horas após a RV). Não foram detectadas diferenças significativas no tempo de sangramento de mucosa oral após a RV.

Conclusões: O TS, quando empregado em cães saudáveis submetidos a HNA, além de não produzir evidência de IRA, causa coagulopatia dilucional transitória de forma semelhante ao RL. O emprego do TS como fluido de reposição volêmica na HNA é preferido em relação ao RL, uma vez que este coloide resulta em menor acúmulo de água extravascular pulmonar que o RL e não produz evidência de edema periférico.

Palavras chaves: cães; coagulação; coloides; lesão renal aguda; transfusão de sangue.

ABSTRACT

DINIZ, M. S. **Evaluation of a third generation hydroxyethyl starch (Tetrastach), in comparison to Lactated Ringer's Solution (LRS), as a volume replacement fluid in healthy dogs undergoing acute normovolemic hemodilution.** Botucatu, 2017. 155 p. Tese (PhD) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Rationale: Synthetic colloids such as tetrastarch solution (TS), when compared to crystalloids, are more effective plasma expanders and minimize the risk of edema. However, TS may cause adverse effects on coagulation and, in septic patients, may increase the risk of acute kidney injury (AKI) and death.

Hypotheses: The first hypothesis was that, in healthy dogs, acute normovolemic hemodilution (ANH) with TS would not induce AKI; while the coagulation impairment induced by this colloid would be at least equivalent to that induced by lactated Ringer's solution (LRS). The second hypothesis was that ANH with TS, when compared to ANH with LRS, would cause less extra-vascular lung water accumulation and less evidence of peripheral edema.

Material and Methods: Six dogs (19.7–35.3 kg) were anesthetized with isoflurane/remifentanyl on 3 occasions. During the first occasion (Phase I), animals did not undergo ANH (control). During Phase II, initiated after an interval of at least 2-weeks, the same dogs underwent anesthesia for ANH on 2 occasions, in a randomized crossover design (washout interval > 8-weeks). During both procedures, the blood withdrawn was replaced with LRS or TS (3 mL of LRS or 1 mL of TS for each 1 mL of blood removed), during 60 minutes, aiming to decrease the hematocrit to 33%. Anesthesia was maintained for 4 hours after volume replacement (VR). Cardiorespiratory variables were recorded at BL (before ANH), 0.5, 1, 2, 3, and 4 hours after VR. Biomarkers of AKI were measured at BL, 4, 24, and 72 hours after ANH. Hemostasis was assessed at BL, 0.5, 2, 4, and 24 hours after VR.

Results: In the TS treatment, the extra-vascular lung water index (EVLWI) observed 1 hour after VR was significantly smaller ($P < 0.05$) than in controls. At 4 hours after VR, the EVLWI in the TS treatment was significantly smaller than in the LRS treatment. The arterial oxygen partial pressure/inspired oxygen fraction ratio did not differ among treatments ($P > 0.05$) between 0.5–4 hours after VR. Head edema was observed in 3/6 dogs in the LRS treatment only. The Neutrophil gelatinase-associated lipocalin/creatinine ratio in urine did not differ among treatments and was lower than the threshold for detecting AKI (120.000 pg/mg) during 72 hours after VR. Clot formation time significantly increased from controls for a longer period in the LRS treatment (between 0.5–4 hours after VR) than in the TS treatment (between 0.5–2 hours after RV). Maximum clot firmness significantly decreased from controls for the same time period for both fluids (between 0.5–4 hours after VR). No significant differences were found for buccal mucosal bleeding time after VR.

Conclusions: The use of TS in healthy dogs undergoing ANH, in addition to not producing evidence of AKI, causes a transient dilutional coagulopathy that is at least similar to that produced by ANH with LRS. In as much as TS results in less extra-vascular lung water accumulation than LRS, and does not produce evidence of peripheral edema, the use of TS as a volume replacement fluid in the ANH setting is favored in comparison to LRS.

Key words: acute kidney injury; autologous blood transfusion; coagulation; colloids; dog.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática do sistema de recuperação sanguínea intraoperatória. O sangue coletado é misturado com anticoagulante, filtrado, lavado, concentrado e devolvido ao paciente. Fonte: Santos et al., 2014..... 26

Figura 2: Representação esquemática da hemodiluição normovolêmica aguda. (A) Bolsas de sangue sendo retiradas imediatamente antes do início da cirurgia, juntamente com a infusão de expansor para manter a normovolemia. (B) Bolsas de sangue sendo reinfundidas durante e/ou imediatamente após o término da cirurgia. Fonte: Santos et al., 2014..... 27

Figura 3: Cascata de coagulação indicando as interferências do hidroxietilamido (HES) adaptada. Fonte: Adaptada de Robbins: “Basic Pathology” por <http://www.hepcentro.com.br/> 45

Figura 4: Representação esquemática da interferência do hidroxietilamido (HES) na hemostasia primária. Imagem das plaquetas na hemostasia primária, na qual estão as principais moléculas das plaquetas, da matriz subendotelial e do plasma que participam dos processos de adesão, secreção e agregação plaquetária. Fonte: Palomo et al., 2009 (modificada)..... 46

Figura 5: Procedimento de hemodiluição normovolêmica aguda (HNA). Fonte: material elaborado pelo autor. 62

Figura 6: Protocolo experimental utilizado em 6 cães submetidos a anestesia sem a realização de hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) (tratamento controle), ou a anestesia com HNA, visando reduzir o hematócrito para 33%, através do emprego de solução de “Tetrastarch” (tratamento TS) ou Ringer Lactato (tratamento RL). As variáveis foram registradas no momento basal (BL), imediatamente após a remoção de sangue durante 30 minutos (RS), imediatamente após a reposição volêmica durante 30 minutos (RV) com TS ou RL (3 mL de RL ou 1 mL de TS para cada 1 mL de sangue removido), e por até 72 horas após a HNA. Fonte: material elaborado pelo autor. 63

Figura 7: Representação gráfica dos valores (média $\pm$ desvio padrão) de hematócrito (Ht), proteína plasmática total (PPT), índice de água extravascular

pulmonar (EVLWI) e da relação entre a pressão arterial de oxigênio e a fração de oxigênio inspirada (PaO_2/FiO_2). As variáveis foram registradas durante a anestesia no momento anterior a hemodiluição normovolêmica aguda (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL e de 0,5 a 4 horas após a reposição volêmica (RV). ^{a, b, c} Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$). Fonte: material elaborado pelo autor. 66

Figura 8: Protocolo experimental utilizado durante o experimento. A hemodiluição normovolêmica aguda (HNA), visando reduzir o hematócrito a 33%, foi realizada durante 60 minutos. As variáveis foram registradas no momento basal (BL), após 2 horas da intubação endotraqueal, e as 0,5, 2 e 4 horas após a reposição volêmica durante a anestesia, e as 24 horas após a reposição nos cães conscientes. Os momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle (não submetido a HNA). Fonte: material elaborado pelo autor. 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características das soluções de HES..... 35

Tabela 2: Estudos clínicos randomizados avaliando a associação entre o HES e a incidência de injúria renal aguda (IRA) e/ou necessidade de terapia de reposição renal (TRR) em pacientes com sepse.Fonte: material elaborado pelo autor. 39

Tabela 3: Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de concentração expirada de isoflurano (ET_{iso}), frequência cardíaca (FC), índice cardíaco (IC), índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) pressão arterial média (PAM), pressão venosa central (PVC) e índice de volume diastólico global final (GEDVI) observados em 6 cães adultos submetidos aos tratamentos controle, Ringer Lactato (RL) e “Tetrastarch” (TS) em um delineamento prospectivo cruzado, parcialmente aleatorizado e não encoberto. As variáveis foram registradas antes da hemodiluição normovolêmica aguda (BL), imediatamente após a remoção do sangue no período de 30 minutos (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS (tratamento TS) ou RL (tratamento RL) durante 30 minutos (RV) e durante 4 horas após a RV (momentos semelhantes foram mensurados no tratamento controle)..... 69

Tabela 4: Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de creatinina plasmática, e medianas (valores mínimos e máximos) de creatinina urinária, lipocalina associada a gelatinase neutrofílica (NGAL) no plasma e na urina, e relação NGAL/creatinina urinária observados em 6 cães adultos submetidos aos tratamentos controle, Ringer Lactato (RL) e “Tetrastarch” (TS) em um delineamento prospectivo cruzado, parcialmente aleatorizado e não encoberto. As variáveis foram registradas durante a anestesia, antes da hemodiluição normovolêmica aguda (BL) e 4 horas após a RV com RL (tratamento RL) e TS (tratamento TS). Logo após o registro das mensurações as 4 horas após a RV, a anestesia foi interrompida e as variáveis foram registradas nos animais conscientes as 24 e 72 horas após a RV (momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle)..... 71

Tabela 5: Média $\pm$ desvio padrão dos valores de hematócrito (Ht), contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo de sangramento de mucosa oral (TSMO) observada em 6 cães

submetidos a hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) com Ringer Lactato (tratamento RL) ou “Tetrastarch” (tratamento TS). As variáveis foram registradas antes da hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) no momento basal (BL), e as 0,5, 2 e 4 horas após a reposição volêmica (RV) (animais anestesiados), Nova coleta foi realizada as 24 horas após a RV nos animais conscientes (anestesia interrompida após coleta de parâmetros as 4 horas após RV). Momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle. ^{a, b, c} Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)..... 84

Tabela 6: Variáveis derivadas da tromboelastometria em amostras de sangue citratado onde a coagulação foi ativada pela via intrínseca (in-TEM) e extrínseca (ex-TEM): tempo de coagulação (CT), tempo de formação do coágulo (CFT), ângulo α e firmeza máxima do coágulo (MCF). Os valores são apresentados como média ($\pm$ desvio padrão) observadas em 6 cães submetidos a hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) com Ringer Lactato (tratamento RL) ou “Tetrastarch” (tratamento TS). As variáveis foram registradas antes da hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) no momento basal (BL), e as 0,5, 2 e 4 horas após a reposição volêmica (RV) (animais anestesiados). Nova coleta foi realizada as 24 horas após a RV nos animais conscientes (anestesia interrompida após coleta de parâmetros as 4 horas após RV). Momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle. 86

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ordem alfabética

°: graus

Ângulo α : parâmetro que reflete a dinâmica de formação do coágulo ou velocidade do acúmulo de fibrina e nível de fibrinogênio

bat/min: batimentos por minuto

BL: momento basal, antes da hemodiluição normovolêmica aguda

CaO₂: conteúdo arterial de oxigênio

CFT: tempo de formação do coágulo

CT: tempo de coagulação

DC: débito cardíaco

DO₂: oferta oxigênio

ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática

ET_{iso}: concentração expirada de isoflurano

EVLWI: índice de água extravascular pulmonar

FC: frequência cardíaca

FiO₂: fração inspirada de oxigênio

GEDVI: índice de volume diastólico final global

HES: hidroxietilamido

HNA: hemodiluição normovolêmica aguda

Ht: hematócrito

IC: índice cardíaco

IRA: injúria renal aguda

IRC: injúria renal crônica

IRVS: índice de resistência vascular sistêmica

IS: índice sistólico

MCF: firmeza máxima do coágulo

mg/dL: miligrama por decilitro

mL/m²: mililitro por metro quadrado

mm: milímetro

mmHg: milímetros de mercúrio

NGAL: lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos

PaCO₂: pressão parcial de gás carbônico

PAM: pressão arterial média

PaO₂/FiO₂: relação entre a pressão parcial de oxigênio arterial e a fração de oxigênio inspirada

PaO₂: pressão parcial de oxigênio

pg/mg: picogramas por miligramas

PPT: proteína plasmática total

PVC: pressão venosa central

RL: solução de Ringer lactato

RS: remoção sanguínea

RV: reposição volêmica

RVS: resistência vascular sistêmica

seg: segundos

TP: tempo de protrombina

TRR: terapia de reposição renal

TS: “*Tetrastarch*” (hidroxietilamido de *peso molecular médio* = 130 kDa e *substituição molar* de 0,4)

TSMO: tempo de sangramento de mucosa oral

TTPa: tempo de tromboplastina parcial ativada

UTI: unidade de terapia intensiva

VO₂: consumo metabólico de oxigênio

VS: volume sistólico

VSgR: volume de sangue a ser retirado

VSgT: volume de sangue total estimado do paciente

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	18
2.REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Hemodiluição Normovolêmica Aguda (HNA).....	22
2.1.1 Indicações e limitações da HNA	23
2.1.2 Emprego clínico da HNA.....	25
2.1.3 Efeitos cardiovasculares da HNA.....	28
2.1.4 Efeitos da HNA na coagulação.....	29
2.2. Soluções de hidroxietilamido (HES).....	31
2.2.1. Farmacocinética e farmacodinâmica do HES	31
2.2.2. Efeitos do HES na função renal	37
2.2.3. Efeitos na coagulação.....	42
2.2.4. Recomendações para a prescrição de HES	47
2.3. Biomarcadores de injúria renal aguda, creatinina e NGAL.	50
2.3.1. Creatinina	51
2.3.2.Lipocalina associada a gelatinase neutrofílica - NGAL	51
3. <i>CAPÍTULO 1: “Efeitos da hemodiluição normovolêmica aguda com “Tetrastarch” a 6% ou Ringer Lactato sobre a função cardiorrespiratória e marcadores de injúria renal em cães”</i>	54
3.1. Resumo.....	54
3.2. Introdução.....	55
3.3. Materiais e Métodos.....	57
3.3.1. Animais e desenho experimental.....	57
3.3.2. Preparo dos animais e variáveis cardiorrespiratórias mensuradas	57
3.3.3. Marcadores de injúria renal aguda mensurados	60
3.3.4. Protocolo de hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) e momentos de coleta das variáveis estudadas:	61
3.3.5. Recuperação anestésica	63
3.3.6. Análise estatística.....	63
3.4. Resultados.....	65
3.4.1. Efeitos da HNA com “Tetrastarch” ou Ringer Lactato no Ht, PPT, EVLWI e relação PaO ₂ /FiO ₂	65
3.4.2. Efeitos da HNA com “Tetrastarch” ou Ringer Lactato no ETISO e variáveis hemodinâmicas (Tabela 3)	66
3.4.3. Efeitos da HNA com "Tetrastarch" ou Ringer Lactato na recuperação anestésica...	70

3.4.4. Efeitos da HNA com " <i>Tetrastarch</i> " ou Ringer Lactato nos biomarcadores de IRA (Tabela 4).....	70
3.5. Discussão	72
3.6. Conclusões	76
4. CAPÍTULO 2: "Efeitos da hemodiluição normovolêmica aguda com 6% <i>Tetrastarch</i> ou ringer lactato sobre a coagulação sanguínea em cães"	77
4.1. Resumo	77
4.2. Introdução.....	78
4.3. Materiais e Métodos.....	80
4.3.1. Hematócrito (Ht), contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP) e o tempo parcial de tromboplastina ativada (TTPa) e tempo de sangramento da mucosa oral (TSMO)	80
4.3.2. Tromboelastometria	81
4.3.3. Tempos de coleta das variáveis estudadas	81
4.3.4. Análise estatística.....	82
4.4. Resultados.....	83
4.4.1. Efeitos da HNA com RL ou TS sobre o Ht, TP, TTPa, contagem de plaquetas e TSMO	83
4.4.2. Efeitos da HNA com TS ou RL avaliados pela tromboelastometria.....	84
4.4. Discussão	87
4.5. Conclusão.....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
APÊNDICES	117
GLOSSÁRIO	157
ANEXOS.....	158

1. INTRODUÇÃO

Em pacientes gravemente enfermos, a reposição volêmica minimiza a possibilidade de lesão tecidual por manter a oferta de oxigênio (DO₂) aos tecidos. Em determinadas cirurgias (esplenectomias, lobulectomias, cirurgias oncológicas abdominais e torácicas) é grande a probabilidade de sangramento intraoperatório excessivo, determinando a necessidade de transfusões de sangue e/ou hemocomponentes para manter a DO₂.

Na medicina veterinária a disponibilidade de hemocomponentes é escassa. Além de que os cães possuem anticorpos naturais para o antígeno eritrocitário canino 3, 5 e 7. Portanto, transfusões alogênicas em cães podem resultar em reações hemolíticas imunomediadas, as quais podem se apresentar tanto de forma aguda, como tardia. Por esta razão, as alternativas para a transfusão autóloga são tão importantes para esta espécie (DAVIDOW, 2013; SPADA et al., 2016).

Dentre as estratégias alternativas, visando reduzir o uso de hemocomponentes no centro cirúrgico, a hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) pode ser uma alternativa interessante na medicina veterinária. Esta técnica consiste na remoção do sangue autólogo, previamente ao procedimento cirúrgico onde se antecipa a ocorrência de sangramento significativo, e a sua substituição com cristaloides e/ou coloides (JAMNICKI et al., 2003). Apesar das vantagens óbvias da HNA, ainda há questões abertas com relação a escolha do fluido mais adequado para manter a volemia durante o procedimento de remoção do sangue autólogo. Os cristaloides isotônicos, como o Ringer Lactato, possuem a desvantagem da necessidade de grandes volumes para manutenção da volemia, resultam em expansão volêmica/otimização hemodinâmica (aumento do débito cardíaco) de curta duração, e estão associados a um maior risco de edema tecidual, devido a redução da *pressão coloidosmótica* (BARROS et al., 2011; VALVERDE et al., 2012). Por outro lado, os coloides sintéticos como as soluções de hidroxietilamido (HES), além de minimizarem o risco de edema tecidual por manterem *pressão coloidosmótica*, necessitam de menor volume para estabilização da volemia, e proporcionam otimização da função

hemodinâmica mais duradoura que a observada com os cristaloides isotônicos (BARROS et al., 2011).

A utilização dos coloides sintéticos na reposição volêmica vem sendo tema de grande debate na medicina. O principal efeito adverso das soluções de HES, que limita o seu emprego em humanos, está associado aos danos causados na função renal (DART et al., 2010; MUTTER et al., 2013). Modelos de experimentação animal (SIMON et al., 2012) e estudos clínicos em humanos (SCHORTGEN et al., 2001; BRUNKHORST et al., 2008) demonstram que soluções de HES com *peso molecular médio* elevado (≥ 200 kDa), aumentam o risco de injúria renal e, em alguns casos, de morte. Confirmando as observações realizadas em humanos, o emprego de solução hiper-oncótica de HES com *peso molecular médio* de 250 kDa (“*Pentastarch*”) foi recentemente associado a um maior risco de injúria renal aguda (IRA) e morte em cães admitidos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) veterinária (HAYES et al., 2016). Embora o risco de injúria renal possa ser menor com o emprego de soluções de HES de baixo *peso molecular médio*, como o “*Tetrastarch*” (130 kDa), este coloide também vem sendo associado a um maior risco de injúria renal aguda/lesão tubular em humanos com sepse (DART et al., 2010; BAYER et al., 2011; MYBURGH et al., 2012; PERNER et al., 2012; HAASE, 2014). Tendo-se em vista que o HES, independentemente do seu *peso molecular médio*, foi associado a um maior risco de lesão tubular aguda/morte em pacientes sépticos e não sépticos (BRUNKHORST et al., 2008; MYBURGH et al., 2012; PERNER et al., 2012), houve uma proibição temporária pela União Européia em 2013, até que houvesse uma melhor definição dos riscos associados ao seu emprego (ADAMIK et al., 2015).

O risco generalizado de indução de complicações renais por todas as gerações de HES, entretanto, não vem sendo confirmado por outras metanálises (VAN DER LINDEN et al., 2013; QURESHI et al., 2016). O “*Tetrastarch*”, quando empregado no período peri-operatório de pacientes submetidos a cirurgias eletivas e emergenciais (traumas e queimaduras), não foi associado a lesões renais ou a aumento da mortalidade (VAN DER LINDEN et al., 2013). Em outro estudo de metanálise recente, um maior risco de lesões renais/morte induzida pelas soluções de HES (“*Pentastarch*” e “*Tetrastarch*”) foi observado somente

quando este coloide foi administrado em pacientes gravemente enfermos apresentando sepse (QURESHI et al., 2016). Estes achados colocam em xeque as restrições generalizadas impostas às soluções de HES de baixo *peso molecular médio* (“*Tetrastarch*”), que podem ser particularmente vantajosas em relação ao uso apenas de cristaloides no período peri-operatório em pacientes onde a sepse não é um fator relevante (MAHMOOD et al., 2007; JAMES et al., 2011). Nestes casos, as soluções de “*Tetrastarch*” podem até reduzir o risco de IRA (MAHMOOD et al., 2007; JAMES et al., 2011).

A associação entre o uso do “*Tetrastarch*” e o maior risco de IRA ainda está por ser estabelecida em cães. Contrastando com o “*Pentastarch*” (HAYES et al., 2016), o “*Tetrastarch*” não resultou em diferenças nos níveis de creatinina sérica em relação ao emprego de cristaloides em cães, sugerindo que o HES de 3ª geração pode ser seguro nesta espécie, no que se refere à função renal (YOZOVA et al., 2016). Entretanto, sabe-se que a creatinina sérica é um parâmetro de baixa sensibilidade na identificação de IRA em estágios iniciais.

Portanto, para a confirmação da segurança do “*Tetrastarch*” em cães, faz-se necessário a realização de estudos empregando parâmetros sensíveis e específicos para detecção de estágios iniciais de IRA, como a lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL). Na espécie canina, a relação NGAL/creatinina urinária acima de 120.000 pg/mg é capaz de prever o desenvolvimento de IRA associada a uremia com elevada sensibilidade e especificidade (95% e 89%, respectivamente) (SEGEV et al., 2013). Portanto, o NGAL urinário seria um marcador ideal a ser empregado na detecção de estágios iniciais de IRA após o uso do HES em cães.

Outro fator que pode limitar o uso de HES seria a inibição da coagulação, devido à redução do *fator de Von Willebrand*, inibição da agregação plaquetária e redução do *fator VIII ativado*, é um efeito adverso potencial que pode limitar o uso de soluções de HES em pacientes cirúrgicos (JAMNICKI et al., 2000; THYES et al., 2006; GLOVER et al., 2014). Apesar do efeito sobre a coagulação “*in vitro*” em cães ter sido avaliado para soluções de HES de diferentes *pesos moleculares* (WIERENGA et al., 2007; CLASSEN et al., 2012; FALCO et al., 2012), os resultados destes estudos possuem aplicabilidade limitada para a realidade clínica. Há poucos estudos clínicos avaliando o uso do HES sobre a hemostasia em cães (CHOHAN et al., 2011; GAUTHIER et al.,

2015). Enquanto a administração de 10 mL/kg de HES de elevado *peso molecular* (“*Pentastarch*”) em cães submetidos a cirurgia ortopédica não causou inibição da hemostasia (CHOHAN et al., 2011), a administração de volumes elevados (40 mL/kg) da solução de HES de 3ª geração (“*Tetrastarch*”) causou hipocoagulabilidade transitória em cães com inflamação sistêmica (GAUTHIER et al. 2016). No contexto da HNA, o “*Tetrastarch*” resulta em efeitos anti-hemostáticos de menor intensidade que as soluções de HES de maior *peso molecular* (650 kDa) em suínos (THYES et al., 2006). Entretanto, há necessidade de esclarecer os efeitos das gerações mais recentes de HES (“*Tetrastarch*”) sobre a hemostasia em cães submetidos à HNA para uma melhor definição das reais potencialidades deste coloide na prática veterinária.

Tendo-se em vista os pontos acima expostos, o presente estudo teve como objetivos comparar os efeitos do “*Tetrastarch*” e do Ringer Lactato, como fluidos de reposição na HNA, no que se refere aos seus efeitos sobre a função cardiorrespiratória, água extravascular pulmonar, marcadores de IRA, e hemostasia em cães saudáveis. Formularam-se as hipóteses de que, em cães saudáveis, a HNA com TS não resultaria em evidência de IRA; enquanto que a inibição da coagulação induzida por este coloide seria ao menos equivalente a produzida pelo RL. A HNA com TS, quando comparada a HNA com RL, resultaria em menor acúmulo de água extravascular pulmonar e menor incidência de edema periférico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hemodiluição Normovolêmica Aguda (HNA)

A HNA é uma técnica empregada para reduzir a perda de células sanguíneas em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos associados sangramento substancial. Esta técnica começou a ser empregada na medicina em meados da década 70 em cirurgias cardíacas (HALLOWELL et al., 1972). O seu aperfeiçoamento ocorreu durante a Guerra do Vietnã, onde a HNA passou a ser utilizada com mais frequência, por ser uma alternativa capaz de diminuir os efeitos indesejados da transfusão sanguínea alogênica, como transmissão de doenças e reações anafiláticas (WONG, 2004).

A HNA consiste na retirada de um determinado volume sanguíneo do paciente, o qual é imediatamente repostado com solução cristaloide e/ou coloide, causando diluição das células sanguíneas e redução do hematócrito (Ht) (ZHOU, 2016). O sangue retirado imediatamente antes da cirurgia, é estocado com anticoagulante e, ao final do procedimento cirúrgico, ou à medida que o sangramento intra-operatório se torne relevante, o sangue autólogo é transfundido ao paciente. Para que o paciente possa se beneficiar da técnica é importante manter a normovolemia (KREIMEIER; MESSMER, 2002; JAMNICKI et al., 2003; WONG, 2004).

A prática de transfusões autólogas beneficia também pacientes que, por motivos religiosos ou de aloimunização, não podem receber transfusões alogênicas (ESPER; WATERS, 2011). O emprego da HNA proporciona sangue fresco ao paciente, com os fatores de coagulação e plaquetas preservados (ZHOU, 2016). Além disto, os custos da HNA são significativamente menores, quando comparados com os custos de sangue alogênico pré-armazenado ou estratégias de autotransfusão intraoperatória. Monk e colaboradores (1995) avaliaram os custos da HNA e constataram que o custo da transfusão alogênica foi 73% maior do que o custo da transfusão autóloga no grupo de pacientes submetidos a HNA. Dentre as outras vantagens da transfusão sanguínea autóloga pode-se destacar: 1) ausência da necessidade de teste de compatibilidade; 2) ausência de reações transfusionais e reações hemolíticas

tardias; 3) prevenção da transmissão de doenças veiculadas pelo sangue alogênico; 4) minimização do risco de contaminação bacteriana relacionada ao armazenamento prolongado do sangue (GOODNOUGH, 2005).

2.1.1 Indicações e limitações da HNA

Embora o principal objetivo da utilização da HNA seja evitar a transfusão alogênica, esta técnica é pouco empregada. Dentre as razões para baixa popularidade da HNA entre os anesthesiologistas/cirurgiões pode-se citar, além da falta de hábito com a técnica, questionamentos sobre a efetividade da mesma em prevenir o uso de transfusões alogênicas (MONK et al., 2005). Para maior efetividade da HNA, os pacientes devem apresentar Ht inicial relativamente elevado. A magnitude da hemodiluição (Ht alvo) deve ser ponderada, embora existam relatos de que a sua eficácia aumenta com a remoção de maior quantidade de sangue (WEISKOPF, 2001). No planejamento do volume sanguíneo a ser removido durante a HNA, além da estimativa da perda sanguínea intra-operatória, deve-se considerar os limites inferiores aceitáveis para uma redução aguda do hematócrito (até 20%) (JAMNICKI et al., 2003).

A eficácia da HNA em reduzir o emprego de transfusões alogênicas é controversa. Uma vez que um estudo de metanálise baseada em 24 estudos clínicos, Bryson e colaboradores (1998) não observaram evidências de que a HNA fosse capaz de diminuir o uso de transfusões alogênicas. Segal e colaboradores (2004), após realizarem metanálise de 42 estudos clínicos utilizando a HNA, observaram que a redução do risco de transfusões alogênicas proporcionada pela HNA foi pequena (10%). A grande heterogeneidade dos métodos empregados, incluindo diferenças na intensidade da perda sanguínea intra-operatória, além de variações nos volumes sanguíneos removidos no pré-operatório, dificultam a real análise da eficácia da HNA pré-operatória na redução de transfusões alogênicas (BRYSON et al., 1998; SEGAL et al., 2004; ZHOU et al., 2015). Caso o volume de sangue perdido no período intra-operatório exceda de forma significativa o volume de

sangue autólogo estocado, haverá necessidade de emprego de transfusão alogênica (BRYSON et al., 1998; SEGAL et al., 2004; ZHOU et al., 2015).

Apesar das revisões sistemáticas de literatura com metanálise questionarem a eficácia da HNA na prevenção da transfusão alogênica (BRYSON et al., 1998; SEGAL et al., 2004), esta técnica foi considerada eficaz para diminuir a transfusão de sangue alogênico em algumas circunstâncias, como pacientes submetidos a artroplastia total de quadril, neurocirurgias e cirurgias hepáticas (GOODNOUGH et al., 2000; MAITHEL et al., 2009; OPPITZ; STEFANI, 2013). O emprego da HNA para estes procedimentos tende a ser mais eficaz quando o volume de sangue removido no pré-operatório for maior (> 800 mL) em humanos. Devido aos benefícios da HNA em cirurgias de ressecção hepática, a hemodiluição deve ser considerada como técnica de rotina nestes procedimentos (JARNAGIN et al., 2008).

A HNA também pode ser uma boa opção para cirurgias cardíacas, as quais estão relacionadas a maior exposição as transfusões alogênicas (GRANT et al., 2015). Entretanto, seu emprego deve ser cauteloso em pacientes com doença valvular ou coronária, uma vez que estes indivíduos são menos tolerantes a hemodiluição (VAN DER LINDEN; SAKR, 2005). A hemodiluição moderada (Ht alvo de 28%) pode aumentar o volume sistólico e melhorar a pré-carga nestes pacientes, esta melhora está relacionada ao grau de hemodiluição, ou seja, aos valores de hemoglobina (LICKER et al., 2005). Goldberg e colaboradores (2015) observaram que a HNA foi eficaz em reduzir transfusão alogênica em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca, sendo que esta técnica foi mais eficaz para atingir este objetivo quando os pacientes eram submetidos a um maior grau de hemodiluição (volume de sangue retirado $\geq$ 800mL).

Tendo-se em vista que a HNA resulta em redução do conteúdo arterial de oxigênio (CaO_2) devido a redução da concentração de hemoglobina, o estado hiperdinâmico compensatório decorrente da HNA, caracterizado por aumento do débito cardíaco (DC), é importante para manter a DO_2 . Portanto, a HNA é contraindicada em pacientes com anemia ou com estenose aórtica severa associada a hipertrofia do miocárdio (KREIMEIER; MESSMER, 2002; GOODNOUGH, 2005). Enquanto em pacientes anêmicos a redução adicional

da hemoglobina pela HNA pode comprometer a DO_2 , em pacientes com estenose aórtica/sub-aórtica. Também pode haver comprometimento/redução da DO_2 pela HNA, uma vez que o aumento compensatório do DC induzido pela hemodiluição, pode ser dificultado pela obstrução parcial da via de saída do ventrículo esquerdo (KREIMEIER; MESSMER, 2002; GOODNOUGH, 2005).

O emprego da HNA em pacientes oncológicos é controverso. Alguns pesquisadores afirmam que a transfusão de sangue autólogo nestes casos implicaria na transfusão de células tumorais e maior risco de metástase; enquanto que outros autores ponderam que a HNA seria uma alternativa viável em cirurgias oncológicas, pois a presença de células cancerígenas na circulação seria questionável, e tampouco a transfusão autóloga estaria relacionada ao surgimento de metástases (WATERS; DONNENBERG, 2009; ESPER; WATERS, 2011). Em pacientes submetidos a transplante hepático, Han e colaboradores (2016) não relataram evidências de impacto relevante da HNA na recorrência de carcinoma hepatocelular.

2.1.2 Emprego clínico da HNA

Para que os benefícios da HNA sejam obtidos (redução da perda de células sanguíneas e de fatores de coagulação durante a cirurgia, além de redução da necessidade de transfusões autólogas) é necessário manter o volume circulante normal durante o procedimento (MURRAY, 2004). A HNA pode ser realizada antes da anestesia em pacientes conscientes ou após a indução anestésica. Contudo, este procedimento deve ser necessariamente realizado nos momentos que antecedem a fase de sangramento intenso (JAMNICKI et al., 2003). O volume de sangue a ser retirado (VSgR) é calculado com base na fórmula de Gross (1983):

$$VSgR = VSgT \times [(Ht_{alvo} - Ht_{inicial}) / (Ht_{alvo} - Ht_{inicial})/2]$$

onde, $VSgT$ = volume de sangue total estimado do paciente, Ht_{alvo} = valor de Ht a ser atingido após a hemodiluição, valor de 33%, e $Ht_{inicial}$ = valor de Ht anterior a hemodiluição).

A hemodiluição é preconizada para pacientes humanos que possuam valores de hemoglobina pré-operatória de no mínimo 11 g/dL (ou $Ht_{\text{inicial}} \geq 33\%$); enquanto o Ht_{alvo} geralmente se situa entre 25 a 30% (KREIMEIER; MESSMER, 2002; JAMNICKI et al., 2003).

O VSgR pode ser obtido em sistema fechado, a fim de evitar contaminações, em equipamento próprio capaz de coletar, armazenar e transfundir o sangue (Figura 1). Neste equipamento especializado, o VSgR do paciente é armazenado em um recipiente com anticoagulante, na sequência este sangue é centrifugado, onde são separadas impurezas e a solução salina do sangue. Este hemocomponente é estocado em bolsas de sangue para utilização subsequente.

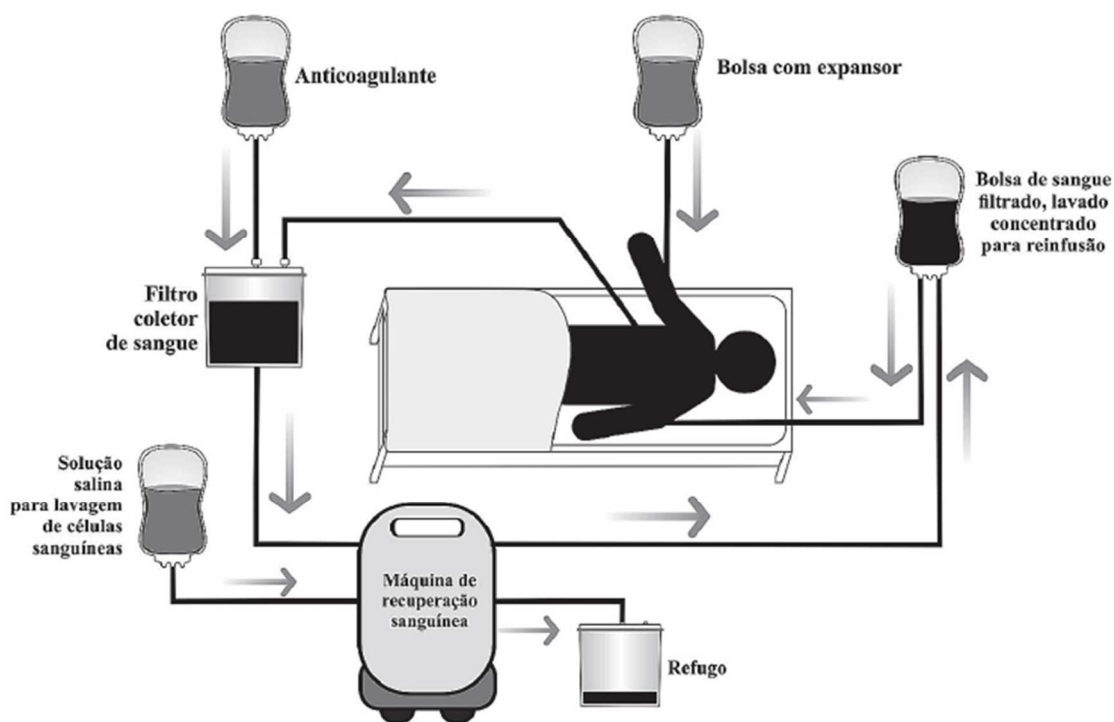


Figura 1: Representação esquemática do sistema de recuperação sanguínea intraoperatória. O sangue coletado é misturado com anticoagulante, filtrado, lavado, concentrado e devolvido ao paciente. Fonte: Santos et al., 2014.

Uma forma mais prática e de menor custo para o emprego da HNA seria através de um sistema de coleta semi-fechado (Figura 2), o qual não requer equipamento especializado. Neste sistema, o sangue é coletado em bolsas contendo anticoagulante (CPDA), as quais são estocadas por curto período de tempo até o momento da retransfusão (GOODNOUGH, 2005; KREIMEIER; MESSMER, 2002). A bolsa de sangue poderá ser armazenada em temperatura ambiente, dentro do centro cirúrgico, para assim manter as propriedades das plaquetas e dos fatores de coagulação, desde que o tempo para transfusão não exceda o período de 8 horas após a coleta. Caso este tempo seja excedido, a bolsa de sangue deverá ser refrigerada (KREIMEIER; MESSMER, 2002; GOODNOUGH, 2005).

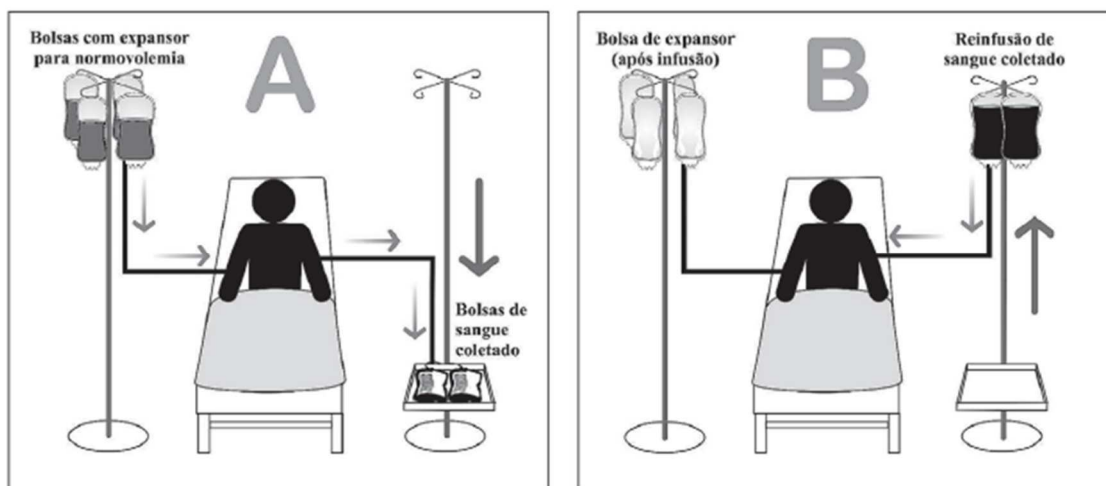


Figura 2: Representação esquemática da hemodiluição normovolêmica aguda. (A) Bolsas de sangue sendo retiradas imediatamente antes do início da cirurgia, juntamente com a infusão de expansor para manter a normovolemia. (B) Bolsas de sangue sendo reinfundidas durante e/ou imediatamente após o término da cirurgia. Fonte: Santos et al., 2014.

Os parâmetros cardiorrespiratórios devem ser monitorados durante todo o procedimento de remoção do sangue, o qual geralmente é realizado concomitantemente à reposição volêmica com soluções cristaloides e/ou coloides, visando garantir a manutenção da perfusão tecidual adequada (KREIMEIER; MESSMER, 2002; MONK et al., 2005). A administração de eritropoietina na fase pré-operatória visando aumentar o $H_{t\text{inicial}}$ foi liberada em alguns países. Este procedimento, quando empregado antes da HNA, pode aumentar o VSgR proporcionando assim uma maior eficácia da técnica (KREIMEIER; MESSMER, 2002; GOODNOUGH, 2005). Visando facilitar a

realização da HNA, Pliskow e colaboradores (2016) desenvolveram um programa de computador capaz de sugerir diferentes protocolos de hemodiluição, dependendo do procedimento cirúrgico e das condições do paciente.

2.1.3 Efeitos cardiovasculares da HNA

A redução da hemoglobina durante a HNA diminui o CaO_2 . Porém, a DO_2 aos tecidos é mantida através de um aumento compensatório do DC: $\downarrow \text{CaO}_2 \times \uparrow \text{DC} = \text{DO}_2$ (estável). Entretanto, a DO_2 é mantida em níveis adequados para suprir o consumo de oxigênio (VO_2) tecidual global apenas em caso de hemodiluição leve a moderada. Nos casos de hemodiluição severa ($\text{Ht} \leq 20\%$), o aumento compensatório do DC pode não ser capaz de manter demanda metabólica de oxigênio dos tecidos/órgãos. Neste caso, há inicialmente um aumento da taxa de extração de oxigênio para que tal demanda seja suprida (SPAHN et al., 1994).

Durante a hemodiluição, a redução do Ht resulta em diminuição proporcional da viscosidade sanguínea. Tal diminuição, além de propiciar uma otimização da microperfusão, contribui também para uma melhora da pré-carga (aumento) e da pós-carga (redução) (LETCHER et al., 1981; SPAHN et al., 1994; JAMNICKI et al., 2003;). O volume sistólico e o DC, por sua vez, se elevam durante a HNA em função dos seguintes fatores: 1) aumento da pré-carga; 2) redução da pós-carga (ambos efeitos associados a melhora das propriedades reológicas do sangue); 3) aumento da contratilidade do miocárdio (SPAHN et al., 1994; DOSS et al., 1995; HABLER et al., 1996; KREIMEIER; MESSMER, 2002; LICKER et al., 2005). A melhora na pós-carga (definida como redução na tensão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo para ejeção do volume sistólico), além de ser atribuída a melhora das propriedades reológicas do sangue (menor viscosidade), é atribuída também a redução da resistência vascular sistêmica (RVS) associada com a produção de óxido nítrico pelo endotélio vascular (SPAHN et al., 1994; DOSS et al., 1995; HABLER et al., 1996; KREIMEIER, MESSMER, 2002; LICKER et al., 2005).

A oxigenação tecidual adequada depende do equilíbrio entre a DO_2 e o consumo de oxigênio (VO_2). Uma vez que os anestésicos reduzem a demanda de oxigênio tecidual devido a diminuição do metabolismo basal, há menor risco de comprometimento da oxigenação tecidual caso a HNA seja realizada em pacientes anestesiados. Entretanto, a DO_2 pode não ser suficiente para suprir a demanda em situações extremas de hemodiluição, com hemoglobina alvo de 5–4 g/dL ($Ht_{alvo} = 15\%$) (TANAKA; NISHIKAWA, 2003), ou em caso de depressão cardiovascular associada a plano profundo de anestesia (SCHOU et al., 1997). Tanaka e Nishikawa (2003) constataram que é possível preservar o controle do barreflexo arterial com o emprego de HNA moderada, com hemoglobina alvo entre 7–8 g/dL ($Ht_{alvo} = 24\%$) e plano anestésico adequado em cães. Com base nestes resultados, pode-se inferir que um grau de hemodiluição moderada (Ht_{alvo} : 24–25%) pode ser empregado com segurança em situações clínicas, sem resultar em comprometimento da oxigenação tecidual, desde que o indivíduo apresente estabilidade hemodinâmica durante a anestesia.

2.1.4 Efeitos da HNA na coagulação

A hemodiluição causa hipocoagulabilidade, independentemente do fluido empregado para reduzir o Ht após a remoção do sangue. Este estado, denominado coagulopatia dilucional, é ocasionado pela diminuição nos fatores de coagulação pelo sangue retirado, e a sua subsequente diluição com o emprego de cristaloides e/ou coloides para manutenção do volume circulante (GLOVER et al., 2014). Há 2 fatores que devem ser considerados para determinar a severidade da coagulopatia dilucional: 1) o volume de sangue retirado; 2) o volume e o tipo de solução de empregada para manutenção da volemia (cristaloides isotônicos ou coloides) (JAMNICKI et al., 2003). Os cristaloides isotônicos não interferem diretamente com a cascata da coagulação (inativando fatores de coagulação) e, portanto, os efeitos anti-hemostáticos destas soluções são proporcionais ao grau de diluição dos fatores de coagulação (BOLLIGER et al., 2010). Por outro lado, os coloides sintéticos, quando

empregados no contexto da HNA, podem exercer efeitos anti-hemostáticos que excedem o seu efeito dilucional, por inibirem diretamente o fator VIII da cascata da coagulação (THYES et al., 2006; BOLLIGER et al., 2010; TOYODA et al., 2014). Entretanto, a severidade dos efeitos anti-hemostáticos diretos pode variar entre os diversos tipos coloides sintéticos. Reconhecidamente, soluções de HES de menor *peso molecular médio*, como o “*Tetrastarch*” (130 kDa), são favorecidas como fluido de reposição na HNA, pois causam menor interferência com a coagulação que soluções de HES de maior *peso molecular* (THYES et al., 2006). No contexto da HNA, entretanto, não se sabe se soluções de HES de menor *peso molecular* resultariam em coagulopatia mais intensa, ou ao menos equivalente, àquela atribuída aos cristaloides isotônicos.

2.2. Soluções de hidroxietilamido (HES)

O HES é uma macromolécula sintetizada a partir do amido de milho ou de batata, o qual é quimicamente modificado através da adição de grupamentos de hidroxietil (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Devido ao seu tamanho (*peso molecular médio* elevado), as moléculas de HES permanecem inicialmente no compartimento intravascular, onde exercem efeito atrativo sobre a água (efeito sobre a *pressão coloidosmótica*), auxiliando na manutenção do volume intravascular. A modificação na estrutura química do amido, através da adição de grupamentos hidroxietil, retarda a sua hidrólise em moléculas menores, bem como a sua subsequente eliminação renal, a qual ocorre quando as moléculas de HES são reduzidas a um tamanho compatível com a sua filtração pelos glomérulos (45 – 60 kDa) (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015).

2.2.1. Farmacocinética e farmacodinâmica do HES

Para a compreensão da farmacodinâmica e da farmacocinética do HES, é importante o reconhecimento de alguns parâmetros que definem as características da estrutura química deste coloide, como o *peso molecular médio*, a *substituição molar* e a *relação C_2/C_6* .

O *peso molecular médio* reflete o tamanho das macromoléculas e, por consequência, determina a persistência na circulação e a duração da expansão volêmica produzida pelo coloide. O HES é hidrolisado em moléculas cada vez menores através da ação da enzima α -amilase plasmática (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Mesmo moléculas menores de HES, derivadas da hidrólise pela α -amilase, continuam a atrair a água no compartimento intravascular, auxiliando assim a manter a *pressão coloidosmótica* e o volume circulante. Este efeito persiste até que a hidrólise progressiva do HES resulte em partículas de tamanho

compatível com a sua filtração glomerular/excreção urinária (45 – 60 kDa) (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015).

A *substituição molar* representa o número médio de grupamentos hidroxietil que se encontram ligados a cada sub-unidade de glicose (constituente da molécula de HES). Por exemplo, uma *substituição molar* de 0,4 indica que há em média 4 grupamentos de hidroxietil para cada 10 sub-unidades de glicose (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). A *substituição molar* apresenta grande relevância para a farmacocinética uma vez que, quanto maior o grau de *substituição molar*, mais retardada será a hidrólise progressiva das moléculas HES em partículas menores pela ação da α -amilase plasmática. Portanto, moléculas de HES com diferentes graus de *substituição molar*, apresentarão diferenças no seu tempo de persistência na circulação (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014).

A *relação C_2/C_6* (também denominada *padrão de substituição*) corresponde a posição relativa dos grupamentos hidroxietil na molécula de glicose, no carbono 2 e carbono 6. O posicionamento do grupamento hidroxietil no carbono 2 resulta em maior dificuldade de hidrólise da molécula de HES pela α -amilase (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014). Portanto, soluções de HES com *relação C_2/C_6* mais elevada são metabolizadas e eliminadas da circulação mais lentamente.

O “*Hetastarch*” foi a 1ª geração de HES sintetizada pela indústria farmacêutica, sendo aprovado para uso clínico pela Alemanha, Japão e Estados Unidos a partir de 1972 (WESTPHAL et al., 2009; ADAMIK et al., 2015). Este coloide é caracterizado por apresentar *peso molecular médio* e grau de *substituição molar* elevados (≥ 450 kDa e 0,7, respectivamente); propriedades que lhe conferem persistência prolongada na circulação e eliminação renal retardada (WESTPHAL et al., 2009). Devido à sua grande eficácia como fluido de reposição volêmica, o “*Hetastarch*” rapidamente ganhou destaque nas salas de emergência, uma vez que produz expansão plasmática rápida e duradoura (SCHORTGEN et al., 2004; WESTPHAL et al., 2009; ADAMIK et al., 2015).

Embora soluções de HES com *peso molecular médio* e grau de *substituição molar* elevados resultem em expansão plasmática mais prolongada, o que seria aparentemente benéfico, tais características estruturais foram implicadas como desencadeadoras de efeitos adversos na coagulação e sobre a função renal (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Enquanto a ação anti-hemostática associado ao uso do “*Hetastarch*” passou a ser reconhecida já a partir de meados da década de 70 (HARKE et al., 1976), somente no final da década de 80/início da década de 90 surgiram os primeiros relatos associando este coloide a ocorrência de injúria renal (HASKELL; TANNENBERG, 1988; WALDHAUSEN et al., 1991). Desde então, visando abolir ou minimizar estes efeitos adversos, a indústria farmacêutica tem focado no desenvolvimento de soluções de HES com menor *peso molecular médio* e menor *substituição molar*, na tentativa de diminuir os efeitos adversos e otimizar a sua eliminação da circulação (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015) (Tabela 1).

Atualmente, além do “*Hetastarch*”, foram desenvolvidos o “*Pentastarch*” e o “*Tetrastarch*” para uso clínico (2° e 3° geração de HES, respectivamente) (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). A nomenclatura das soluções de HES é descrita por números separados por barras, os quais fazem referência a suas características estruturais, sendo o primeiro número referente ao *peso molecular médio*, o segundo número referente a *substituição molar* e o terceiro número referente a *relação C₂/C₆* (“*Hetastarch*” 450/0,7/5:1; “*Pentastarch*” 250/0,5/5:1; “*Tetrastarch*” 130/0,4/9:1).

Embora a *relação C₂/C₆* tenha se elevado com a 3ª geração de HES o que em tese dificultaria a sua hidrólise/eliminação, a redução do *peso molecular médio* e da *substituição molar* favorece a hidrólise e excreção renal mais acelerada (redução da meia vida de eliminação) das novas gerações de HES (Tabela 1). Muito embora o efeito deletério sobre a coagulação tenha sido minimizado/eliminado com a 3ª geração de HES (“*Tetrastarch*”), os efeitos adversos sobre a função renal ainda não foram superados, ao menos em

humanos (WESTPHAL et al., 2009; MUTTER et al., 2013; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015).

Tabela 1. Características das soluções de HES

	Peso molecular médio (kDa)	Substituição molar	Relação C ₂ /C ₆	Concentração (%)	Meia vida de eliminação (horas)*
<i>Hetastarch</i>	450	0,7	5/1	6	300
<i>Pentastarch**</i>	200	0,5	5/1	6	30,6*
<i>Tetrastarch</i>	130	0,4	9/1	6	12,8

* Meia vida de eliminação para humanos

**Valor determinado para o HES 200/0,5 (6%)

Fonte: Westphal et al., 2009.

Além das diferentes características estruturais acima discutidas, as soluções de HES podem ser apresentadas em diferentes concentrações (6% ou 10%), geralmente diluídas em um fluido cristalóide isotônico. As soluções de HES a 10% são hiper-oncóticas, pois apresentam *pressão coloidosmótica* mais elevada que a observada normalmente no plasma humano. Uma vez que elevações da *pressão coloidosmótica* para valores suprafisiológicos (> 25 mmHg) resultam em atração de água para o interior do compartimento intravascular, soluções de HES a 10% são capazes de promover expansão plasmática equivalente a 145% do volume infundido; enquanto soluções de HES a 6% produzem expansão plasmática próxima a 100% do volume administrado (JUNGHEINRICH; NEFF, 2005; WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014).

Muito embora soluções hiper-oncóticas (10%) sejam aparentemente vantajosas pela sua maior eficácia em expandir o volume intravascular, estas não são mais empregadas. Este fato se deve a associação do uso de soluções de HES a 10% (*peso molecular médio* ≥ 200 kDa, *substituição molar* $\geq 0,5$) com lesões tubulares agudas/injúria renal, tanto em modelos experimentais de sepse (SIMON et al., 2012), como em estudos clínicos randomizados em humanos (BRUNKHORST et al., 2008) e em cães (HAYES et al., 2016). Um dos mecanismos propostos para explicar as lesões renais associadas a soluções hiper-oncóticas seria o fato de que o aumento da *pressão coloidosmótica plasmática* induzido pelo HES a 10%, em pacientes desidratados, poderia resultar em hiperviscosidade urinária, com consequente

estase/obstrução do fluxo tubular renal (MORAN; KAPSNER, 1987; ROZICH; PAUL, 1989; BOLDT, 2009).

A eliminação do HES, além de ser dependente das suas características estruturais (*peso molecular médio*, *substituição molar* e *relação C₂/C₆*), é determinada principalmente pela concentração plasmática da α -amilase (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Devido a maior atividade da α -amilase em cães do que no homem, a meia vida de eliminação do “*Hetastarch*” é substancialmente mais curta em cães (7,45 dias) do que em humanos (12,8 dias) (YAKOBI et al., 1982; Mocharla et al., 1990). Tem-se especulado que a maior rapidez de hidrólise e eliminação das soluções de HES em cães possa contribuir para uma menor susceptibilidade desta espécie à IRA induzida por este coloide (GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015; YOZOVA et al., 2016). Entretanto, esta observação permanece especulativa e não vem sendo confirmada por estudos recentes, os quais demonstraram que a administração de solução hiperoncótica de “*Pentastarch*” (10%), em cães admitidos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) veterinária, resultou em maior risco IRA e morte (HAYES et al., 2016).

Após a hidrólise pela α -amilase, o HES é eliminado principalmente pela via renal, a qual é responsável pela eliminação de 70% das moléculas do coloide (GLOVER et al., 2014). Somente moléculas de HES com *peso molecular* abaixo do limiar de excreção renal (45 a 60 kDa), são filtradas pelo glomérulo e excretadas na urina (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Embora o *peso molecular médio* de todas as gerações de HES esteja situado acima do limiar de excreção renal (130 a 450 kDa), este varia de forma substancial nas soluções comerciais de HES, havendo moléculas de *peso molecular* substancialmente maior e/ou menor que o valor médio indicado (WESTPHAL et al., 2009). Portanto, logo após a infusão intravenosa do HES, haverá moléculas que serão excretadas imediatamente devido ao seu baixo *peso molecular*; enquanto outras moléculas serão excretadas somente quando seu *peso molecular* atingir o limiar de excreção renal através do processo de hidrólise. Em cães há evidências histopatológicas da deposição de HES um período de até 6 dias em células do fígado, baço,

linfonodos e células tubulares renais sem, no entanto, causar interferências na função dos órgãos (THOMPSON et al., 1970).

2.2.2. Efeitos do HES na função renal

O emprego de soluções de HES em pacientes em estado grave é controverso, pois estes coloides podem estar associados a um maior risco de IRA/aumento na mortalidade (MUTTER et al., 2013). As soluções de HES podem induzir a IRA por 2 mecanismos:

O primeiro mecanismo consiste na indução de *nefrose osmótica*. (DICKENMANN et al., 2008). Neste caso, as moléculas de HES presentes no ultrafiltrado glomerular são absorvidas por pinocitose pelas células tubulares proximais, formando vacúolos. Na sequência estas moléculas causam aumento da pressão oncótica intracelular e, logo, a pressão hidrostática intracelular também se eleva ao ponto de causar ruptura/lesão aguda das células tubulares (DICKENMANN et al., 2008; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015; ADAMIK et al., 2015).

O segundo mecanismo de injúria renal induzida pelo HES pode ser explicado pela estase/obstrução do fluxo urinário nos túbulos renais (BOLDT, 2009). O fluxo urinário é diretamente proporcional a *pressão de filtração glomerular efetiva* (P_{eff}), a qual é determinada pela fórmula:

$$P_{eff} = (P_{cap} - P_{bow}) - P_{pla}$$

onde, P_{cap} = pressão hidrostática capilar, P_{bow} = pressão hidrostática na cápsula de Bowman's, e P_{pla} = pressão coloidosmótica plasmática.

O aumento da viscosidade urinária deve-se ao aumento P_{pla} nas arteríolas glomerulares, com consequente diminuição da P_{eff} e da taxa de filtração glomerular (fluxo urinário nos túbulos renais). Este mecanismo (aumento da P_{pla} nas arteríolas glomerulares) pode ocorrer durante a administração de coloides hiper-oncóticos (HES a 10%) em pacientes desidratados. Quando as moléculas menores de HES são filtradas pelo glomérulo nestas condições, a

urina produzida pode se tornar hiperviscosa, ao ponto de reduzir ou até mesmo interromper o fluxo urinário tubular (MORAN; KAPSNER, 1987; ROZICH; PAUL, 1989; BOLDT, 2009; SIMON et al., 2012).

Embora a indução de hiperviscosidade urinária/obstrução tubular aguda associada ao emprego de soluções hiper-oncóticas de coloides pareça ser uma hipótese atrativa para explicar a ocorrência de IRA nestes casos (MORAN; KAPSNER, 1987; ROZICH ; PAUL, 1989; BOLDT, 2009; SIMON et al., 2012), estudos de metanálise recentes não suportam a hipótese de que o caráter hiper-oncótico destas soluções seja, isoladamente, um fator de risco para IRA (WIEDERMANN et al., 2010).

Os primeiros relatos associando o emprego do HES de elevado *peso molecular* (“*Hetastarch*”) as ocorrências de injúrias renais/IRA surgiram no final da década de 80, início da década de 90 em humanos (HASKELL; TANNENBERG, 1988; WALDHAUSEN et al., 1991). Entretanto, foi somente a partir de meados da década de 90, que estudos clínicos randomizados passaram a demonstrar a associação entre soluções de HES de elevado *peso molecular médio* (≥ 200 kDa) e a possível ocorrência de IRA (CITTANOVA et al., 1996). Desde então, a possível associação entre soluções de HES e a ocorrência IRA e/ou necessidade de terapia de reposição renal (TRR), vem sendo confirmada pela maioria dos estudos clínicos randomizados em pacientes com sepse (SCHORTGEN et al., 2001; BRUNKHORST et al., 2008; SCHABINSKI et al., 2009; MYBURGH et al., 2012; PERNER et al., 2012) (Tabela 2).

Tabela 2. Estudos clínicos randomizados avaliando a associação entre o HES e a incidência de injúria renal aguda (IRA) e/ou necessidade de terapia de reposição renal (TRR) em pacientes com sepse. Fonte: material elaborado pelo autor.

Autores/ano de publicação	Grupo controle: Tipo de fluido Número de pacientes (n)	Grupo (s) intervenção: Tipo de coloide Número de pacientes	Característica da população/subgrupos	Resultados/ Conclusões
Schortgen et al., 2001	Gelatina a 3% n = 64	HES a 6% (250/0,6) n = 65	-Sepse severa ou choque séptico	HES é fator de risco para IRA
Brunkhorst et al., 2008	Ringer lactato n = 275	HES a 10% (200/0,5) n = 262	-Sepse severa	Maior incidência de IRA e maior necessidade de TRR com uso de HES
Bayer et al., 2011	Cristaloides n = 141	HES a 6% (130/0,4) n = 118 Gelatina a 4% n = 87	-Sepse severa	Reposição volêmica com cristaloides apresentou efetividade similar aos coloides Coloides (Gelatina e HES) resultaram em maior incidência de IRA
Myburgh et al., 2012	Solução Salina Isotônica n = 3336	HES a 6% (130/0,4) n = 3315	-IRA prévia -Sepse -Trauma -Doença severa (APACHE II > 25) -Uso prévio de HES	Ausência de diferença entre Solução Fisiológica e HES na mortalidade aos 90 dias pós-admissão Aumento da necessidade de TRR com uso de HES
Perner et al., 2012	Ringer Acetato n = 400	HES a 6% (130/0,4) n = 398	-Sepse severa	Aumento da mortalidade aos 90 dias pós-admissão e maior necessidade de TRR com uso de HES
Guidet et al., 2012	Solução Salina Isotônica n = 98	HES a 6% (130/0,4) n = 100	-Sepse severa	Menor volume de HES necessário para atingir estabilização hemodinâmica Ausência de diferenças na mortalidade, incidência de IRA, coagulação
Annane et al., 2013	Ringer Lactato, Solução Salina Isotônica/Hipertônica n = 1443	HES (tipo não especificado), Gelatinas, Dextrans, Albumina n = 1414	-Choque hipovolêmico com sepse -Choque hipovolêmico com trauma -Choque hipovolêmico (sem sepse/trauma)	Aos 28 dias pós-admissão: ausência de diferença na mortalidade entre grupos Aos 90 dias pós-admissão: menor mortalidade com coloides

Entretanto, a associação de soluções modernas de HES (“*Tetrastarch*”) às lesões renais na sepse nem sempre vem sendo confirmada por estudos clínicos randomizados. Em pacientes em choque hipovolêmico (incluindo hipovolemia associada à sepse), observou-se que a reposição volêmica com coloides (Gelatina, HES, Dextrans e Albumina) (n = 1414) reduziu a mortalidade aos 90 dias pós-admissão, quando comparada à reposição volêmica com cristaloides (Ringer Lactato, Solução Salina Isotônica/Hipertônica) (n = 1443) (ANNANE et al., 2013). Em outro estudo clínico randomizado, incluindo apenas pacientes com sepse severa, o “*Tetrastarch*” a 6% (n = 10) proporcionou estabilidade hemodinâmica com emprego de menor volume,

comparativamente a Solução Salina Isotônica (n = 98) (GUIDET et al., 2012). Embora estes efeitos já sejam esperados, o resultado de maior relevância neste estudo foi a ausência de associação entre o “*Tetrastarch*” e maior incidência de IRA, prurido, ou a maior interferência na hemostasia do que o cristalóide (GUIDET et al., 2012) (Tabela 2).

Devido ao acúmulo progressivo do conhecimento a respeito do tema, revisões sistemáticas de literatura com metanálise publicadas na “*The Cochrane database of systematic reviews*” apresentam conclusões diferentes com relação aos efeitos renais das soluções de HES (DART et al., 2010; MUTTER et al., 2013). Em uma primeira publicação, após análise de um total de 34 estudos clínicos randomizados (2.607 pacientes), Dart e colaboradores (2010) concluíram que haveria um maior risco de IRA com o emprego de soluções de HES apenas na sepse. Entretanto, até aquele momento, eventuais diferenças entre as gerações HES, no que se refere ao risco de injúria renal, não puderam ser confirmadas pela falta de dados suficientes para análise (DART et al., 2010). Em 2013, em publicação suplementar àquela realizada em 2010, o mesmo grupo de pesquisadores analisou um total de 42 estudos clínicos randomizados, totalizando 11.399 pacientes (MUTTER et al., 2013). Nesta metanálise, os autores concluíram que todas as gerações de HES estão associadas a um maior risco de injúria renal aguda, tanto em pacientes sépticos quanto em pacientes não sépticos. Observaram também que ainda não foi determinada uma dose segura de HES para ser prescrita, e que os benefícios destas soluções não superam os riscos (MUTTER et al., 2013).

O risco renal representado por todas as gerações de HES (incluindo o “*Tetrastarch*”) na sepse vem sendo confirmado por sucessivas metanálises (DART et al., 2010; HAASE et al., 2013; SERPA NETO et al., 2014). Embora, a controvérsia vem sendo alimentada por estudos clínicos randomizados demonstrando que, em cirurgias cardíacas, o HES (200 kDa/0,5) não apresentam efeitos deletérios na função renal (WIESEN et al., 2005). Estudos demonstram até mesmo que soluções de HES de baixo *peso molecular* podem exercer efeito benéfico sobre a função renal em determinados tipos de pacientes, provavelmente devido a otimização da perfusão. Por exemplo, em indivíduos submetidos a cirurgia corretiva de aneurisma aórtico, os grupos de pacientes que

receberam soluções de HES a 6% com 2 diferentes *pesos moleculares* (200 kDa, n = 21 ou 130 kDa, n = 21), apresentaram melhora na função renal em relação aos pacientes que receberam Gelatina a 4% (MAHMOOD et al., 2007). Em pacientes com trauma penetrante, o uso do “*Tetrastarch*” para reposição volêmica (n = 36), quando comparado ao uso da Solução Salina Isotônica (n = 34), resultou em redução do lactato sérico e menor incidência de injúria renal (JAMES et al., 2011).

Estudos de metanálise também vêm confirmando os achados dos estudos clínicos randomizados no que se refere a segurança do “*Tetrastarch*” em pacientes cirúrgicos e no trauma, onde a sepse não é um fator relevante (VAN DER LINDEN et al., 2013; QURESHI et al., 2016). Van der Linden e colaboradores (2013), ao analisarem 59 estudos clínicos randomizados onde o “*Tetrastarch*” (n = 2139) foi comparado a outros fluidos (n = 2390), observaram que o “*Tetrastarch*”, quando administrado em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos eletivos ou emergenciais (trauma ou queimadura), não aumentou probabilidade de IRA e TRR, bem como não aumentou a possibilidade de sangramento ou o uso de transfusões alogênicas em comparação à albumina (VAN DER LINDEN et al., 2013). Em outro estudo de metanálise mais recente envolvendo um total de 16.889 pacientes, incluindo pacientes cirúrgicos, com trauma, e outros gravemente enfermos, observou-se que o maior risco de mortalidade, aumento de IRA e TRR associado ao uso do HES (incluindo o “*Pentastarch*” e o “*Tetrastarch*”) é verificado somente em pacientes gravemente enfermos com sepse (QURESHI et al., 2016). Os autores concluíram ainda que as restrições gerais aplicadas ao HES não são suportadas por evidência científica, uma vez que estes coloides podem se apresentar seguros em determinadas circunstâncias (hipovolemia aguda).

Há carência de estudos clínicos randomizados avaliando a segurança renal das soluções de HES na medicina veterinária. Recentemente, em estudo clínico observacional realizado em cães admitidos em uma UTI veterinária, o grupo de animais que recebeu “*Pentastarch*” a 10% (n = 180) apresentou maior probabilidade de efeitos adversos, incluindo IRA e morte, quando comparado ao grupo de animais que recebeu fluidoterapia convencional (n = 242) (HAYES et al., 2016). Por outro lado, em cães sem

evidência de injúria renal prévia (creatinina sérica dentro da normalidade), a administração de 25 (12–62) mL/kg/dia de “*Tetrastarch*” [mediana (mínimo–máximo)] durante 3 (1–9) dias (n = 86) não resultou em diferenças nas concentrações de creatinina sérica em relação aos animais que receberam fluidoterapia apenas com cristalóide (n = 115) (YOZOVA et al., 2016). Embora a mortalidade tenha sido mais elevada no grupo HES, os autores concluíram que este fator não foi atribuído ao coloide, uma vez neste grupo havia um maior número de animais em estado grave (YOZOVA et al., 2016).

2.2.3. Efeitos na coagulação

Quando soluções de HES são empregadas como fluido de reposição volêmica em procedimentos cirúrgicos, é grande a preocupação com a ocorrência de coagulopatias, com consequente aumento do sangramento no período peri-operatório. Entretanto, a hipocoagulabilidade causada pelo HES pode ser benéfica em pacientes que tem predisposição a desenvolver trombose no pós-operatório (KOZEK-LANGENECKER, 2005).

Os prejuízos na coagulação sanguínea causados pelo HES podem ocorrer de acordo com os seguintes mecanismos: 1) coagulopatia dilucional; 2) ligação e inativação do *fator VIII* e do *fator de von Willebrand*; 3) inibição do receptor de glicoproteína IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) que se encontra ativado na superfície das plaquetas; 4) inibição da ligação entre GP IIb/IIIa e o *fator de von Willebrand* ou o fibrinogênio; 4) aceleração do processo de fibrinólise (TOYODA et al., 2014) (Figura 3 e 4).

A interferência na coagulação estaria diretamente relacionada ao *peso molecular médio* e a *substituição molar* das soluções de HES (JUNGHEIRINCH; NEFF, 2005; GLOVER et al., 2014; ADAMIK et al., 2015; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Portanto, as novas gerações, desenvolvidas com modificações na sua estrutura química visando acelerar o seu metabolismo e eliminação, podem atenuar os prejuízos na coagulação (JUNGHEIRINCH; NEFF, 2005; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015; ADAMIK et al., 2015). Deste modo, o HES de terceira geração (“*Tetrastarch*”) induziria hipo-

coagulabilidade dose-dependente, porém, apresentaria menor interferência na hemostasia quando comparado com as soluções da primeira e segunda geração (“*Hetastarch*” e “*Pentastarch*”, respectivamente) (JUNGHEIRINCH; NEFF, 2005; GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015; ADAMIK et al., 2015). Jungheirinch e colaboradores (2004), em pacientes submetidos a cirurgia ortopédica, observaram que parâmetros de coagulação (atividade do *fator VIII* e *fator de von Willebrand*) se normalizaram mais rapidamente com “*Tetrastarch*” do que com o “*Pentastarch*”, provavelmente devido a eliminação mais rápida do “*Tetrastarch*” em relação as demais gerações de HES (JUNGHEIRINCH et al., 2004).

O emprego de HES em humanos está associado a disfunção plaquetária e a deficiência de fatores de coagulação, com redução significativa do fator XIII e, principalmente, a deficiência de fibrinogênio. Entretanto, o “*Tetrastarch*” tende a inibir a função plaquetária em menor grau do que as soluções de *peso molecular médio* e a *substituição molar* mais elevados (FINGER-ERIKSEN et al., 2009). Muito embora o “*Tetrastarch*” cause menor interferência com a coagulação que as gerações anteriores de HES, este coloide ainda pode interferir com as propriedades viscoelásticas do coágulo por diluir os fatores de coagulação (coagulopatia dilucional) (FINGER-ERIKSEN et al., 2009). O “*Tetrastrach*”, quando empregado para produzir hemodiluição de 30% em humanos, reduz a firmeza máxima do coágulo (MCF) avaliada pela tromboelastometria (ENTHOLZNER et al., 2000; FINGER-ERIKSEN et al., 2009). Estudos produzindo hemodiluição “*in vitro*” demonstram que todas as gerações de HES interferem com as propriedades viscoelásticas do coágulo, resultando em prolongamento do tempo de coagulação (CT), prolongamento do tempo de formação do coágulo (CFT), além da redução da MCF (ENTHOLZNER et al., 2000). Entretanto, a hemodiluição “*in vitro*” também demonstra que o “*Tetrastarch*” causa menor interferência nas propriedades viscoelásticas do coágulo que o “*Hetastarch*” e o “*Pentastarch*”, com redução da MCF equivalente a observada com a hemodiluição produzida pela Solução Salina Isotônica (ENTHOLZNER et al., 2000).

Estudos avaliando os efeitos da hemodiluição progressiva induzida “*in vitro*” com soluções de HES demonstram resultados variáveis sobre a

coagulação na espécie canina. Após a produção de 33 e 67% de hemodiluição através da adição de fluidos, o HES de *elevado peso molecular médio/substituição molar* (670/0,75) causou maior interferência nas propriedades viscoelásticas do coágulo (tromboelastometria) que o Ringer Lactato (MORRIS et al., 2016). Por outro lado, tanto uma solução de HES de *elevado peso molecular médio/substituição molar* (HES 600/0,75) como o “*Tetrastarch*” (HES 130/0,4), produziram estado similar de hipocoagulabilidade no sangue canino “*in vitro*” (WURLOD et al., 2015). Estes resultados podem sugerir que, ao menos na espécie canina, o HES de baixo *peso molecular* (“*Tetrastarch*”) não apresentaria superioridade óbvia em relação às gerações anteriores de HES no que se refere aos seus efeitos na coagulação. Falco e colaboradores (2012) observaram hipocoagulabilidade progressiva induzida pela hemodiluição (10 a 25%) do sangue canino. Entretanto, este efeito não poderia ser atribuído apenas a um efeito dilucional do coloide, uma vez que graus similares de hemodiluição com Solução Salina Isotônica não alteraram os parâmetros derivados da tromboelastometria neste estudo (FALCO et al., 2012).

A diminuição na MCF induzida pelo HES pode estar relacionada à alteração na função e na quantidade de plaquetas e fibrinogênio. Além disto, com a inclusão do HES no coágulo, este exerce ação fibrinolítica (FENGER-ERIKSEN et al., 2009). Para a formação da rede de fibrina, é necessário que esta interaja com o *fator VIII ativado* e com o *fibrinogênio ativado*. Uma vez que o coloide promove diminuição no *fator VIII ativado*, a rede de fibrina se torna mais friável (Figura 3) (FENGER-ERIKSEN et al., 2009; ADAMIK et al., 2015). Deste modo, o mecanismo mais importante que correlaciona HES a coagulopatias parece ser a deficiência adquirida de *fibrinogênio*, uma vez que a adição de fibrinogênio a amostras de sangue hemodiluídas com “*Tetrastarch*” é capaz de normalizar a MCF (FENGER-ERIKSEN et al., 2009).

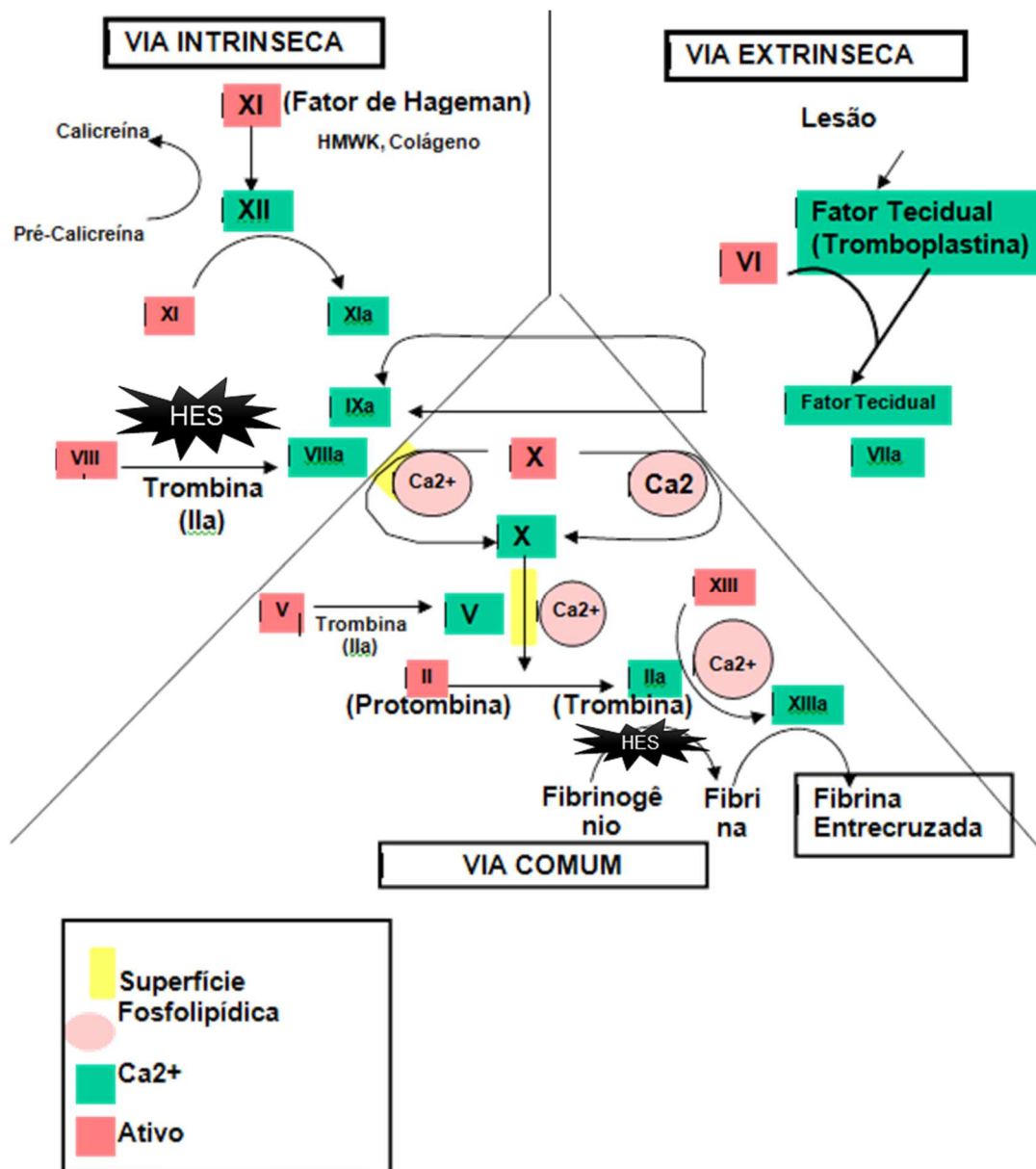


Figura 3 Cascata de coagulação indicando as interferências do hidroxietilamido (HES) adaptada. Fonte: Adaptada de Robbins: "Basic Pathology" por <http://www.hepcentro.com.br/>.

A disfunção plaquetária (inibição da hemostasia primária) associada ao emprego do HES também pode estar correlacionada à diminuição da expressão e ativação do receptor GIIb/IIIa presente na superfície das plaquetas ativadas (VAN DER LINDEN; Ickx, 2006; ADAMIK et al., 2015). A glicoproteína (GIIb/IIIa) é essencial para que ocorra o processo de agregação plaquetária, uma vez que

esta proporciona uma ligação entre a plaqueta e o *fator de von Willebrand* presente nas células endoteliais, iniciando-se desta forma formação do tampão plaquetário (Figura 4) (VAN DER LINDEN; Ickx, 2006; ADAMIK et al., 2015). Além da hemostasia secundária, avaliada pela tromboelastografia/tromboelastometria, a hemostasia primária (formação do tampão plaquetário) também pode ser afetada negativamente pelo “*Tetrastarch*”

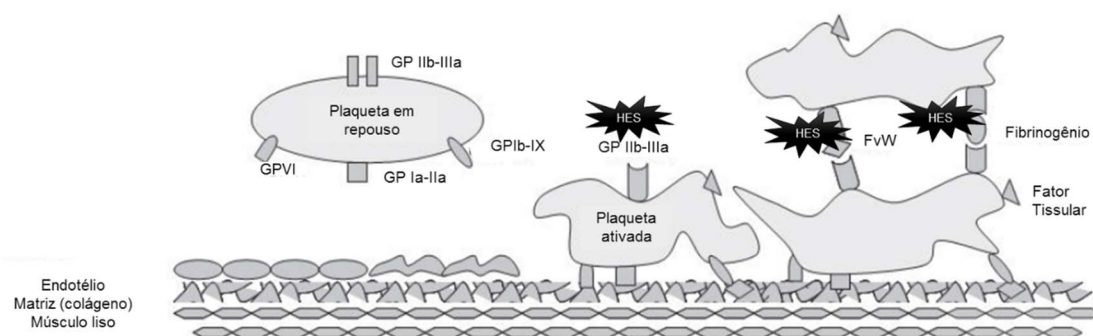


Figura 4: Representação esquemática da interferência do hidroxietilamido (HES) na hemostasia primária. Imagem das plaquetas na hemostasia primária, na qual estão as principais moléculas das plaquetas, da matriz subendotelial e do plasma que participam dos processos de adesão, secreção e agregação plaquetária. Fonte: Palomo et al., 2009 (modificada).

no sangue canino submetido a hemodiluição “*in vitro*” (CLASSEN et al., 2012).

Os estudos produzindo hemodiluição “*in vitro*” apresentam relevância clínica limitada, uma vez que não é possível, com este modelo experimental, se mimetizar a redistribuição de fluidos entre os compartimentos intravascular e intersticial, bem como os efeitos diretos e/ou indiretos dos fluidos sobre o tônus vascular e, consequentemente, sobre o volume circulatório (WURLOD et al., 2015). Além disto, a hemodiluição “*in vitro*” não pode simular eventuais perdas sanguíneas continuadas em pacientes cirúrgicos, bem como o efeito dos fluidos sobre a liberação de fatores fibrinolíticos e/ou sobre a dissolução dos coágulos (WURLOD et al., 2015). O “*Tetrastarch*”, quando comparado a soluções de HES de maior *peso molecular*, resultou em menor interferência na coagulação em um modelo suíno de HNA (THYES et al., 2006).

Atualmente não há doses máximas diárias recomendadas para o uso de soluções de HES em animais. Mesmo as moléculas de HES de elevado *peso molecular*, caso sejam empregadas em doses reduzidas em pacientes não predispostos a sangramento, não aparentam causar efeitos clínicos adversos na

coagulação. Moore e Garvey (1996), após administrar o “*Hetastarch*” no tratamento da hipoalbuminemia em cães, concluem que coagulopatias leves não parecem ser o suficiente para contraindicar o uso deste coloide. Da mesma forma, a administração de 10 mL/kg de HES de elevado *peso molecular médio/substituição molar* (600/0,75), quando comparada a igual volume de Ringer Lactato, não alterou os parâmetros de hemostasia (TP, TTPa, TSMO, FVIII e vWF) em cães submetidos a cirurgia ortopédica (CHOHAN et al., 2011).

Contrastando com a inibição da função plaquetária canina demonstrada após o uso do “*Tetrastrach*” para hemodiluição “*in vitro*” (Classen et al., 2012); em cães submetidos ao choque hemorrágico (remoção de 48mL/kg de sangue), tanto a administração de “*Tetrastarch*” (20mL/kg) como de Solução Salina Isotônica (80mL/kg) inibiram a função plaquetária de forma equivalente, suportando a hipótese de que o “*Tetrastarch*” não interfere com a coagulação, além de um efeito dilucional (MC BRIDE et al., 2016).

A relação entre o HES e as coagulopatias requer mais estudos clínicos, para melhorar a compreensão da real interferência na coagulação em animais. Diante das evidências, em animais apresentado desordens na coagulação o risco de sangramento deve ser considerado, restringindo a administração do HES.

2.2.4. Recomendações para a prescrição de HES

Diante de resultados tão controversos quanto ao emprego de HES, em novembro de 2012 a “*German Medicines Agency*” analisou os resultados de 3 estudos clínicos randomizados (BRUNKHORST et al., 2008; MYBURGH et al., 2012; PERNER et al., 2012) para avaliar a segurança e a eficácia da administração do HES (GLOVER et al., 2014). Todos os estudos em tela associaram o uso do “*Tetrastarch*” a 6% a um maior risco de injúria renal em pacientes com sepse/sepse severa (BRUNKHORST et al., 2008; MYBURGH et al., 2012; PERNER et al., 2012); sendo que em uma destas publicações, a

solução de HES foi associada ao um aumento de mortalidade (PERNER et al., 2012).

Frente aos resultados observados pela “*German Medicines Agency*”, esta requisitou uma revisão a respeito do tema pelo “*Pharmacovigilance Risk Assessment Committee*” no dia 29 de novembro de 2012. Este comitê concluiu que, em pacientes gravemente enfermos (sepse, queimaduras, trauma, ou pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos), os benefícios do HES não superavam os riscos. O “*Pharmacovigilance Risk Assessment Committee*” publicou no dia 13 de junho de 2013 no site do “*European Medicines Agency*” um comunicado de imprensa, onde recomendou a suspensão da autorização da venda de HES na União Européia (EMA, 2013a). Na sequência, em outubro de 2013, esta suspensão também foi adotada pelo “*Coordination Group for Mutual Recognition and Decentralized Procedures*”. Então, de forma provisória, o HES foi completamente suspenso do mercado por meio de um comunicado emitido pelo “*Medicines and Healthcare products Regulatory Agency*” no Reino Unido (ADAMIK et al., 2015).

Outro comunicado de imprensa, publicado no site da “*European Medicines Agency*” em 23 de outubro de 2013, emitido pela “*Coordination Group for Mutual Recognition and Decentralized Procedures*”, de acordo com o posicionamento do “*Pharmacovigilance Risk Assessment Committee*”, concluiu que o HES não deveria mais ser empregado em pacientes com sepse, queimaduras e pacientes críticos por aumentar o risco de IRA e mortalidade. O HES poderia ser empregado apenas em pacientes hipovolêmicos devido a hemorragia aguda, e que não fossem responsivos ao tratamento prévio com cristaloides. Ainda de acordo com o “*Coordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures*”, o HES não deveria ser administrado por mais de 24 horas, e o paciente deveria ter sua função renal monitorada (EMA, 2013b).

Diante das evidências de que o HES pode causar IRA, aumento de mortalidade e coagulopatias, o “*United States Food and Drug Administration (FDA)*”, em novembro de 2013 aprovou novas recomendações para a prescrição de HES, tanto para o paciente quanto para o médico que o prescreveria. As recomendações destinadas aos pacientes descrevem sinais

importantes que estes devem ficar atentos, como alterações na coloração, frequência, e quantidade de urina; cansaço ou fadiga; edema de pernas, pé, face e mãos. As recomendações aos médicos fazem referência a algumas contra-indicações para a prescrição do HES: 1) não usar em pacientes gravemente enfermos, incluindo sepse; 2) evitar utilizar em pacientes com doença renal pré-existente; 3) monitorar a função renal por 90 dias em pacientes hospitalizados; 4) monitorar a coagulação em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca, e que tenham recebido “*Hetastarch*” em solução salina, interrompendo o uso caso haja algum sinal de coagulopatia; 5) não usar HES em pacientes com doença hepática severa; 6) monitorar a função hepática dos pacientes em que o HES foi administrado (FDA, 2013).

Na medicina veterinária há carência de estudos clínicos randomizados avaliando a segurança do HES nas diversas espécies animais. Entretanto, por precaução, os cuidados advertidos para o homem poderiam ser extrapolados para as espécies animais. Devido eliminação acelerada do HES pela ação da α -amilase plasmática em cães, tem-se especulado que esta espécie seria menos susceptível a IRA causada por este coloide (GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015; YOZOVA et al., 2016). Com base em estudos clínicos recentes, aparentemente o “*Tetrastarch*” a 6% seria mais seguro do que o “*Pentastarch*” a 10% na espécie canina, uma vez que o coloide de 3° geração não foi associado à maior incidência de IRA ou morte aos 90 dias pós-admissão (HAYES et al., 2016; YOZOVA et al., 2016). Entretanto, estudos veterinários frequentemente apresentam pequeno poder estatístico para detectar diferenças no risco relativo de IRA ou na mortalidade, em populações apresentando uma miríade de doenças (CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). De fato, no estudo de Yozova e colaboradores (2016), a inclusão de um número maior de cães gravemente enfermos no grupo “*Tetrastarch*” não permitiu que os autores efetuassem conclusões a respeito do efeito do coloide na mortalidade.

2.3. Biomarcadores de injúria renal aguda, creatinina e NGAL.

Doenças renais são de grande importância clínica tanto na medicina humana quanto na veterinária, pois causam aumento na mortalidade e morbidade. A IRA é caracterizada por uma rápida diminuição na taxa de filtração glomerular (DEVARAJAN, 2006; DAVIS et al., 2016) e pode se desenvolver em decorrência de um determinado período em que o rim é submetido a hipoperfusão, por exemplo este fato pode ocorrer durante uma anestesia geral inalatória (ROSS, 2011; DAVIS et al., 2016).

Um sinal laboratorial observado capaz de demonstrar disfunção renal é a proteinúria. Sabe-se que as alterações nos valores de proteínas específicas, excretadas via urina permite determinar o local da lesão renal, e possibilita a avaliação da severidade da lesão. A aplicabilidade dos testes capazes de detectar as proteínas que indicam lesão renal ainda é pouco conhecida na veterinária (NABITY et al., 2012). Diagnosticar e determinar o grau de proteinúria é importante, uma vez que a mesma pode refletir na diminuição do tempo de sobrevida em cães. A IRA apresenta alta mortalidade tanto em humanos quanto em cães, 45 – 64% 50 – 60%, respectivamente, isso ocorre devido ao diagnóstico tardio da doença (COBRIN et al., 2013).

A alta mortalidade pode ser atribuída à baixa sensibilidade dos testes aplicados para detectar a doença e, conseqüentemente acaba gerando atraso no início do tratamento. Deste modo, métodos que possibilitam o diagnóstico precoce da doença renal, podem aumentar a sobrevida destes pacientes. Por esta razão muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de avaliar novos métodos que viabilizem o diagnóstico precoce da IRA, tanto na medicina humana, quanto na veterinária (COBRIN et al., 2013).

As pesquisas buscam por métodos ideais de biomarcadores para prever injúria renal, que devem ser capazes de: detectar tanto injúria renal aguda e crônica (IRC); devem ser sensíveis em detectar lesões precoces; localizar e prever severidade da doença; e monitorar os efeitos do tratamento (COBRIN et al., 2013).

2.3.1. Creatinina

A creatinina é o teste comumente utilizado para avaliar a função renal tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária (BRAUN et al., 2003). Atualmente, é considerado o teste padrão para determinar a função renal. O clearance da creatinina sérica avalia a taxa de filtração glomerular. Na análise dos resultados é importante ponderar fatores que interferem na interpretação, como idade, sexo, alimentação e peso (COBRIN et al., 2013). Porém há biomarcadores de injúria renal capazes em diagnosticar injúria renal precoce antes mesmo de observar aumento significativo nos valores de creatinina (DEVARJAN et al., 2011).

2.3.2. Lipocalina associada a gelatinase neutrofílica - NGAL

A NGAL, que também denominado como Lipocaína 2 (Lcn 2), é uma proteína com peso molecular de 25KDa (COBRIN et al., 2013). A elevada expressão desta proteína ocorre em decorrência de uma resposta do néfron à injúria epitelial renal (SCHMIDT-OTT et al., 2006). A quantificação dos valores de NGAL é capaz de auxiliar no diagnóstico precoce da IRA, e deste modo, viabiliza um melhor prognóstico. Atualmente, o acesso ao teste capaz de dosar NGAL está disponível apenas para pesquisa, o teste é realizado pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) espécie-específico.

Por ser altamente sensível e específico, a NGAL é capaz de diagnosticar IRA de forma mais precoce em relação à creatinina (identificar a injúria renal causada tanto na IRA quanto na IRC). Há evidências de que a expressão da NGAL se comporte de forma superior aos demais biomarcadores de lesão renal (NAG, α 1 microglobulina e creatinina) (NICKOLAS et al., 2008). Durante a avaliação de 635 pacientes humanos, a NGAL urinária demonstrou ser altamente predictiva em identificar pacientes com lesões renais ou nefropatias em comparação com outros biomarcadores. Um único teste da

NGAL urinária, é capaz de identificar IRA, paciente renal em estado de pré-azotemia, IRC e pacientes sem disfunção renal (NICKOLAS et al., 2008).

A dosagem da NGAL urinária parece ser mais sensível do que o NGAL sérico. Visto que a concentração de NGAL sérico pode ser alterada não só pela expressão desta proteína em outros órgãos (tais como: pulmão, estômago e colón), como também a proteína pode refletir em alterações secundárias decorrentes de doenças (por exemplo: infecção bacteriana aguda e injúria tecidual) (DEVARJAN et al., 2011). Enquanto não se sabe ao certo quais são as reais diferenças e limitações entre as concentrações de NGAL presente no plasma e na urina, é indicado que se faça a dosagem de ambas as amostras (AHN; HYUN, 2013).

Quando a injúria renal ocorre após a cirurgia, ocorre aumento de 50% dos valores de creatinina sérica, esta elevação a qual que pode ser observada de 1 a 3 dias após a cirurgia, enquanto os valores de NGAL se elevam precocemente de 2 a 6 horas após o procedimento.

Os valores de NGAL na injúria renal aguda são expressivamente maiores do que os valores observados durante a injúria renal crônica em humanos (DEVARJAN et al., 2011). O mesmo foi observado em cães, após avaliação de valores de NGAL sérico em animais classificados em diferentes fases da IRC. Observou-se que o valor de NGAL presente no plasma é maior quando a doença renal se encontra em estágio avançado (AHN; HYUN, 2013).

A quantificação de NGAL urinário foi capaz de identificar de forma adequada lesão tubular renal em cães, que foram submetidos a hemorragia guiada a pressão ($PAM \leq 40\text{mmHg}$), seguida por reposição volêmica com solução de gelatina a 4% até recuperar a normotensão (DAVIS et al., 2016).

Como a IRA é uma doença comum em cães, Segev e colaboradores (2013) avaliaram 94 cães classificados como: saudáveis, cães com menores disfunções no trato urinário, cães com IRC. Observou-se que o melhor valor apresentado pela relação NGAL/creatinina urinária capaz de detectar IRA em cães foi 120.000 pg/mg. Este valor apresentou uma sensibilidade de 95% e especificidade de 89%. Deste modo, o ponto de corte avaliado agiliza o diagnóstico, facilita o rápido tratamento e melhora o prognóstico de cães com

IRA. No entanto a NGAL precisa ser avaliado em um grupo maior de cães para então ser prescrito como um teste padrão no diagnóstico de IRA nesta espécie.

3. **CAPÍTULO 1: “Efeitos da hemodiluição normovolêmica aguda com 6% *Tetrastarch* ou Ringer Lactato sobre a função cardiorrespiratória e marcadores de injúria renal em cães”.**

3.1. **Resumo**

Introdução: O “*Tetrastarch*” (TS) é um expansor volêmico mais efetivo que o Ringer Lactato (RL). Entretanto, o TS pode causar injúria renal aguda (IRA) quando administrado em quadros de sepse.

Objetivo: Comparar os efeitos da hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) com RL ou com TS sobre a função cardiorrespiratória e marcadores de IRA em cães saudáveis.

Material e Métodos: Seis cães (19,7–35,3 kg) foram anestesiados durante 7 horas com isoflurano/remifentanil em 3 ocasiões. Na primeira ocasião (Fase I), os animais não foram submetidos a HNA (controle). Na Fase II, iniciada após intervalo > 2 semanas do término da Fase I, os cães foram anestesiados em 2 ocasiões para realização de HNA, em um modelo experimental cruzado randomizado (intervalo > 8 semanas). Em ambas as anestесias, o sangue removido foi repostado com TS ou RL, (3 mL de RL ou 1 mL de TS para cada 1 mL de sangue removido), visando reduzir o hematócrito para 33%. A anestesia foi mantida por quatro horas após a reposição volêmica (RV). As variáveis cardiorrespiratórias foram coletadas no momento BL (antes da HNA), 0,5, 1, 2, 3 e 4 horas após a RV. Os biomarcadores de IRA foram mensurados no momento BL, 4, 24 e 72 horas após a RV.

Resultados: No tratamento TS o índice de água extravascular pulmonar (EVLWI) observado 1 hora após a RV ($10,0 \pm 1,9$ mL/kg) foi significativamente menor ($P < 0,05$) em relação ao controle ($11,9 \pm 3,4$ mL/kg). As 4 horas após a RV, o EVLWI no tratamento TS ($9,7 \pm 1,9$ mL/kg) também foi significativamente menor em relação ao tratamento RL ($11,8 \pm 2,7$ mL/kg). A relação pressão parcial de oxigênio/fração inspirada de oxigênio não diferiu entre tratamentos ($P > 0,05$) entre 0,5–4 horas após a RV. Edema de cabeça foi observado em 3/6 cães entre 2–4 horas após a RV no tratamento RL. A relação lipocalina associada a gelatinase neutrofílica (NGAL)/creatinina urinária não diferiu entre os tratamentos e manteve-se abaixo do limite para detecção de IRA (120.000 pg/mg) durante 72 horas após a RV.

Conclusões: Concluiu-se que a HNA com ambos os fluidos produz estado hiperdinâmico com ausência de evidências de edema pulmonar e/ou impedimento às trocas gasosas, o TS contrasta com o RL por reduzir o acúmulo de água extravascular e não formar edema periférico. Entretanto, o TS é mais vantajoso como fluido de reposição para a HNA por não causar edema periférico nem IRA em cães saudáveis.

3.2. Introdução

A utilização de cristaloides isotônicos ou coloides artificiais para a reposição volêmica é tema de um amplo debate na medicina, que se estende há décadas (MUTTER et al., 2013, QURESHI et al., 2016). Em razão da administração de “*Tetrastarch*” a 6% (TS) estar associada a maior risco de injúria renal aguda (IRA), em consequência do dano tubular renal causado em pacientes sépticos, o TS vem sendo contraindicado em pacientes com sepse ou com doença renal pré-existente (PERNER et al., 2012).

No entanto, a administração de TS pode ser associada a resultados favoráveis. Quando empregado precocemente na reposição volêmica de pacientes em estado grave apresentando trauma penetrante, este fluido pode ser eficaz em reduzir os níveis de lactato circulantes, ou até diminuir a injúria renal (JAMES et al., 2011). Em estudo de metanálise recente, verificou-se de que não há evidências que suportam as generalizadas restrições aplicadas ao TS (QURESHI et al., 2016). Na medicina veterinária não há dados suficientes para estabelecer a segurança do TS em cães (GLOVER et al., 2014; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). Em outra publicação recente, onde o efeito de TS foi avaliado sobre os valores de creatinina em cães admitidos a uma UTI veterinária, verificou-se que o TS não promoveu aumento dos valores de creatinina sérica quando comparado aos animais que receberam fluidoterapia apenas com cristaloides (YOZOVA et al., 2016). Contudo conclusões sobre a utilização de TS e a segurança renal permanecem inconclusivas, uma vez que a creatinina é pouco sensível para detectar estágios precoces de IRA em comparação com outros biomarcadores (YOZOVA et al., 2016).

A HNA é uma técnica empregada em procedimentos cirúrgicos associados ao maior risco de sangramento capaz de evitar o emprego da transfusão sanguínea alogênica (JAMNICKY et al., 2003; MONK et al., 2005; REEH et al., 2016). Esta técnica consiste na remoção do sangue e subsequente reposição com cristaloides isotônicos ou coloides artificiais, a fim de manter a normovolemia antes da cirurgia e reduzir o hematócrito para um valor previamente definido (JAMNICKY et al., 2003; MONK et al., 2005). O sangue autólogo removido é posteriormente retransfundido ao final da cirurgia,

ou quando o sangramento intra-operatório se torna clinicamente relevante (JAMNICKY et al., 2003; MONK et al., 2005). O TS, quando comparado ao RL como fluido de reposição volêmica na HNA, é capaz de manter a pressão coloidosmótica e diminuir o risco de edema intersticial e pulmonar (GAUTHIER et al., 2014); além de resultar em hemodinâmica superior [aumento no débito cardíaco (DC) mais prolongado que o observado após a HNA com RL] (OTSUKI et al., 2007).

Formulou-se no presente estudo a hipótese de que a administração do TS como fluido de reposição volêmica durante a HNA, quando comparada a HNA obtida com o emprego de RL, resultaria em menor formação de edema periférico e pulmonar. Para testar esta hipótese avaliou a formação do edema pulmonar mensurou-se o índice de água extravascular pulmonar (EVLWI) por meio da técnica de termodiluição transpulmonar para determinação do DC. O EVLWI é capaz de quantificar com precisão o volume de fluido presente no espaço intersticial alveolar em diversas espécies, incluindo cães (KATZENELSON et al., 2004; FERNÁNDEZ-MONDÉJAR et al., 2005; TAGAMI et al., 2010).

A segunda hipótese formulada foi que o emprego do TS, como fluido de reposição para a HNA, não produziria evidências de IRA em estágio inicial ou avançado em cães saudáveis. Para testar esta hipótese, além da creatinina, mensurou-se a lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL) no plasma e na urina. O NGAL é uma proteína expressa em neutrófilos, em células do epitélio tubular renal e em outros órgãos. As concentrações de NGAL na urina aumentam após injúria renal isquêmica em cães (DAVIS et al., 2016). A relação NGAL/creatinina urinária tem mostrado ser altamente sensível e específica em detectar estágios precoce de IRA em cães, sendo útil para diagnosticar IRA antes mesmo da ocorrência de aumento nas concentrações de creatinina e alterações nos parâmetros urinários (proteinúria) (SEGEV et al., 2013).

3.3. Materiais e Métodos

3.3.1. Animais e desenho experimental

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética da instituição (Comissão de Ética no Uso de Animais, CEUA) com o protocolo de número 043/2015. Foram utilizados 6 cães, da raça Pointer Inglês, com peso entre 19,4 – 35,8 kg, dos quais eram 4 machos e 2 fêmeas, com 47 e 48 meses de idade. Todos os animais eram provenientes do canil da FMVZ – Unesp. A higidez dos cães foi testada por meio de exame físico e testes laboratoriais (hemograma, perfil bioquímico: hepático e renal; urinálise) dentro dos limites de normalidade. Após o final do período experimental todos os cães foram doados.

Este estudo foi desenvolvido em um modelo prospectivo, não-encoberto, parcialmente randomizado e cruzado. Cada animal foi anestesiado em 3 ocasiões distintas. Na primeira ocasião (Fase I), os animais foram anestesiados por 7 horas sem a realização de HNA (tratamento controle). Após um período de duas semanas iniciou-se a Fase II, na qual os animais foram anestesiados em duas ocasiões distintas com a mesma técnica e por período similar, com um intervalo mínimo de 8 semanas, para permitir a normalização dos parâmetros hematológicos. Nesta fase os animais foram submetidos aleatoriamente a HNA com RL (tratamento RL) ou com TS (tratamento TS), onde o sangue removido foi repostado com RL ou TS (3 mL de RL ou 1 mL de TS para repor cada 1 mL de sangue retirado, respectivamente).

3.3.2. Preparo dos animais e variáveis cardiorrespiratórias mensuradas

Após jejum alimentar de 12 horas, com água *ad libitum*, os animais foram pré-medicados com morfina¹ (0,5 mg/kg, IM). Decorridos 15 minutos da pré-medicação, introduziu-se um cateter² 20-G na veia cefálica. Em seguida, a anestesia foi induzida via máscara facial com 5% isoflurano³ diluído em 4 litros

¹ Sulfato de morfina, Dimorf® (10mg/mL), Cristália, Itapira, São Paulo, Brasil.

² Cateter Angiocath, Becton Dickinson, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

³ Isoflurano 100% - Isoforine®, Cristália, Itapira, São Paulo, Brasil.

de oxigênio a 100%. Após a intubação endotraqueal, então a sonda foi acoplada ao circuito circular valvular do aparelho de anestesia⁴. Na sequência foi cateterizada a vesícula urinária. A anestesia foi mantida com isoflurano associado à infusão contínua de remifentanil⁵ (0,15 µg/kg/minuto), administrado via bomba de seringa⁶. As concentrações expiradas de isoflurano (ET_{ISO}), mensuradas por meio de analisador de gases incorporado ao aparelho de anestesia⁴, foram ajustadas de forma a suprimir movimentos espontâneos e manter a PAM entre 60 – 70 mmHg durante toda a anestesia.

Após posicionamento dos animais em decúbito dorsal, instituiu-se ventilação mandatória intermitente sincronizada controlada a volume⁴. O volume corrente expirado e a relação inspiração/expiração foram mantidos constantes (12 mL/kg e 1/1,5 respectivamente), com a fração de oxigênio inspirada (FiO₂) mantida entre 0,35 – 0,45. A frequência respiratória foi ajustada de forma a manter a pressão parcial de gás carbônico (PaCO₂) próximo a 40 mmHg durante a anestesia.

A temperatura corporal foi mantida entre 37,5 – 38,5°C através aquecedor⁷, mensurada por um sensor de temperatura esofágico posicionado intra-torácico. Ao longo da anestesia os animais receberam fluidoterapia de manutenção com Ringer Lactato (2 mL/kg/h), administrado por bomba peristáltica⁸ através da veia cefálica.

Um cateter venoso central de mono-lúmen⁹ de calibre 18-G, com 20 cm de comprimento, foi inserido na veia jugular até que sua extremidade distal fosse posicionada na entrada do tórax para monitorar a pressão venosa central (PVC). Um segundo cateter de termodiluição transpulmonar¹⁰ 3-F, com comprimento de 7 cm, foi assepticamente inserido na artéria femoral, à 2,5 cm da dobra inguinal, para monitorar o débito cardíaco (DC) de forma intermitente, conforme previamente descrito (GAROFALO et al., 2016). Ambos os cateteres foram

⁴ Aparelho de anestesia Dräger Primus, Drägerwerk AG ; Co, Lübeck, Alemanha.

⁵ Cloridrato de remifentanil- Ultiva® 2 mg, GlaxoSmithKline, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁶ Bomba de infusão de seringa DigiPump LP 8x®, Digicare Animal Health, RJ, Brasil.

⁷ Aquecedor Warmtouch™ - Bair Hugger®, Arizant Healthcare, Minneapolis, MN, EUA.

⁸ Bomba de infusão peristáltica DigiPump LP 8x®, Digicare Animal Health, RJ, Brasil.

⁹ Cateter Venoseld monolúmen18 - G 20 cm, Rehlinger-Siersburg, Alemanha

¹⁰ Cateter PiCCO PV2013L07N, Pulsion Medical Systems, Munich, Alemanha

conectados aos transdutores de pressão¹¹ previamente preenchidos com solução salina e zerados em relação à altura da base do coração para monitorar a PVC e a PAM.

A FC foi mensurada pelo eletrocardiograma do monitor multiparamétrico a partir da II derivação de Einthoven¹². A mensuração do DC foi realizada pela técnica de termodiluição transpulmonar¹³. Para obtenção dos valores de DC, administrou-se 5 mL de solução resfriada ($\leq 5^{\circ}\text{C}$) de solução salina isotônica, durante 2 a 3 segundos, através do cateter venoso central. A temperatura da solução injetada foi aferida por um sensor de temperatura posicionado na conexão do cateter venoso central e a tubulação do transdutor de pressão. A curva de termodiluição (mudança de temperatura *versus* tempo) foi obtida pelo sensor de temperatura da extremidade distal do cateter de termodiluição inserido na artéria femoral.

Para cada bolus de 5 mL de solução resfriada, o monitor gera um novo cálculo do valor de DC através da equação de Stewart-Hamilton (SAKKA et al., 2012), além de mensurar o volume diastólico final global (GEDV) e água extravascular pulmonar (EVLW) (KATZENELSON et al., 2004; SAKKA et al., 2012). Para cada momento, as variáveis de DC, GEDV e EVLW foram mensuradas em triplicata. As variáveis calculadas foram: superfície corpórea (m^2) = peso corpóreo (gramas)^{2/3}. $10,1 \cdot 10^{-4}$; índice cardíaco (IC) = DC/superfície corpórea ($\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$); índice sistólico (IS) = IC/FC ($\text{mL}/\text{bat}/\text{m}^2$); índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) = (PAM - PVC)/IC (dinas.seg cm^5/m^2); índice de água extravascular pulmonar (EVLWI) = EVLW/peso corpóreo (mL/kg).

Amostras de sangue arterial (1 mL), colhidas a partir do cateter femoral em seringas heparinizadas, foram imediatamente submetidas à hemogasometria¹⁴ para obtenção dos valores de pH, PaCO_2 e pressão parcial de oxigênio (PaO_2) corrigidos pela temperatura corpórea. A PaO_2 foi utilizada para calcular a relação da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial/fração inspirada de oxigênio ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$). Na sequência, a mesma amostra de sangue foi utilizada para mensurar o hematócrito e a proteína plasmática total (PPT)

¹¹ Transdutor de pressão descartável TruWave™ PX 260, Edwards Lifesciences Irvine, CA, EUA.

¹² Monitor multiparamétrico DX 2020®, Dixtal Biomédica Ind. Com. Ltda, Amazonas, Brasil.

¹³ Módulo PiCCO, Pulsion Medical Systems/Dixtal, São Paulo, São Paulo, Brasil.

¹⁴ Analisador de gases sanguíneos Modelo 348, Siemens, Halstead, Reino Unido.

após sua centrifugação¹⁵ a 11.500 rpm durante 5 minutos. O refratômetro¹⁶ utilizado para mensurar a PPT foi previamente zerado com água destilada antes de cada mensuração.

3.3.3. Marcadores de injúria renal aguda mensurados

As concentrações de NGAL e creatinina foram determinadas no plasma e na urina.

As amostras de sangue coletadas para mensuração do NGAL foram coletadas em tubos contendo EDTA. As amostras de urina foram coletadas, através de sonda uretral durante a anestesia. A vesícula urinária era esvaziada através da sonda uretral com auxílio de seringa, após a coleta de urina a cada momento. Após o término da anestesia, a urina foi coletada por micção espontânea ou, caso necessário, através de sonda uretral.

Em cada momento, o sangue e urina utilizados para mensuração do NGAL e creatinina foram centrifugados¹⁷ a 2.500 rpm, a temperatura de 2 – 8°C, durante 20 minutos. Após coleta do sobrenadante, as amostras foram armazenadas a -70°C até a análise.

Enquanto a creatinina plasmática e urinária foram analisadas por meio do método colorimétrico^{18,19}, o NGAL plasmático e urinário foi mensurado por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)²⁰ específico para a espécie canina. Após o descongelamento das amostras, o NGAL foi mensurado em duplicata em 96 poços presentes na placa de ELISA, conforme as recomendações do fabricante. Após a reação ser interrompida, em consequência da adição do ácido sulfúrico, a intensidade da cor foi determinada por um leitor de microplaca²¹ com um comprimento de onda de 450 nm. As concentrações de NGAL foram determinadas empregando-se curva padrão

¹⁵ Centrífuga de Micro Hematócrito MH, Celm, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

¹⁶ Refratômetro, Megabrix, São Paulo, São Paulo, Brasil.

¹⁷ Centrífuga refrigerada - Sigma 2-16KL, Sigma Laborzentrifugen, Osterod am Harz, Alemanha.

¹⁸ Espectofotômetro SB-190, Celm, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

¹⁹ Espectofotômetro Cobas, Mira Plus, Roche, Indianapolis, Indiana, EUA.

²⁰ NGAL (Lipocalina-2) Kit ELISA, MyBioSource, San Diego, Califórnia, EUA.

²¹ Leitor de microplaca multi-modo Synergy HTX, Biotek, Winooski, Vermont, EUA

formada por 8 concentrações pré-definidas do peptídeo. Caso a variação das amostras em duplicata resultasse em valores > 20%, a amostra era novamente analisada em duplicata e, na sequência, era obtido a média dos valores.

3.3.4. Protocolo de hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) e momentos de coleta das variáveis estudadas:

A HNA objetivou reduzir o hematócrito (Ht) para 33%. O volume de sangue retirado (VSgR) foi determinado individualmente pela fórmula:

$$\text{VSgR (mL)} = 80 \times \text{peso (kg)} \times [(\text{Ht}_{\text{alvo}} - \text{Ht}_{\text{basal}}) / (\text{Ht}_{\text{alvo}} + \text{Ht}_{\text{basal}}/2)]$$

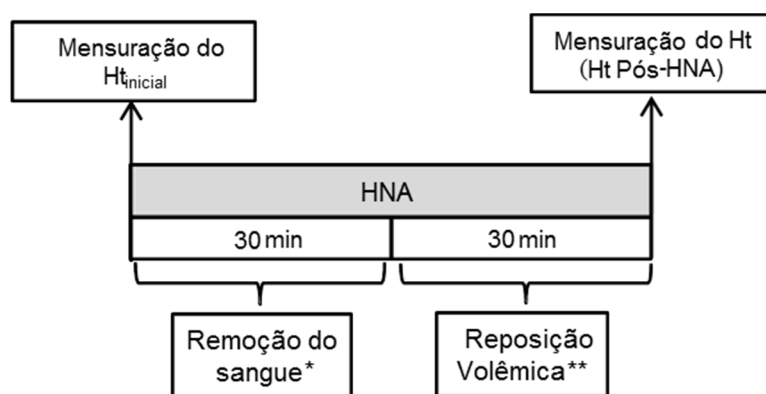
Onde: 80 representa o volume de sangue total estimado em cães (mL/kg); Ht_{alvo} refere-se ao Ht desejado (33%); Ht_{basal} refere se ao Ht observado antes do início da HNA (GROSS et al., 1983).

A HNA foi realizada durante um período de 60 minutos (Figura 5). O sangue foi removido durante 30 minutos, a partir de um cateter 20-G ²²inserido na artéria dorsal podal, em membro contralateral ao membro no qual o cateter de termodiluição transpulmonar foi inserido na artéria femoral. Na sequência foi realizada a reposição volêmica durante 30 minutos através do cateter venoso central, empregando-se o Ringer Lactato na proporção de 3:1 (tratamento RL) ou “*Tetrastarch*” na proporção de 1:1 (tratamento TS).

O sangue foi estocado em uma bolsa de coleta de sangue contendo o volume de anticoagulante, CPDA²³ na proporção adequada para o volume de sangue a ser retirado. O VSgR foi aferido por uma balança de precisão (com base na proporção de 1,08 gramas = 1 mL de sangue).

²² Cateter Insyte, Becton Dickinson, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

²³ Bolsa de coleta de sangue/CPDA, JP Industria Farmacêutica, Ribeirão Preto, SP, Brasil.



*Volume a ser retirado (mL) = $80 \times \text{peso (kg)} \times (\text{Ht}_{\text{inicial}} - \text{Ht}_{\text{alvo}}) / [(\text{Ht}_{\text{inicial}} + \text{Ht}_{\text{alvo}}) / 2]$

**Volume a ser reposto: Ringer Lactato (3 : 1) ou Tetrastarch (1 : 1)

Figura 5: Procedimento de hemodiluição normovolêmica aguda (HNA). Fonte: material elaborado pelo autor.

Após o período de estabilização anestésica e preparo dos animais (desde a intubação endotraqueal até duas horas após a indução da anestesia), onde a ET_{ISO} foi ajustada de forma a manter PAM entre 60 e 70 mmHg e a prevenir movimentos espontâneos, foram registradas as variáveis referentes ao momento basal (BL). Imediatamente após o momento BL, iniciava-se o procedimento de HNA.

As variáveis cardiorrespiratórias, Ht e PPT foram registradas no momento BL, imediatamente após a remoção do sangue (RS), imediatamente após a reposição volêmica (RV), e 0,5, 1, 2, 3 e 4 horas após a RV. A anestesia foi interrompida ao término da coleta de parâmetros às 4 horas após a RV (Figura 6).

As concentrações plasmáticas e urinárias de NGAL, creatinina e a relação NGAL/creatinina urinária foram mensuradas nos momentos BL, 4, 24 e 72 horas após a RV (Figura 6). A relação NGAL/creatinina urinária foi calculada com valores de NGAL (pg/ml) dividido pelos valores de creatinina (mg/ml).

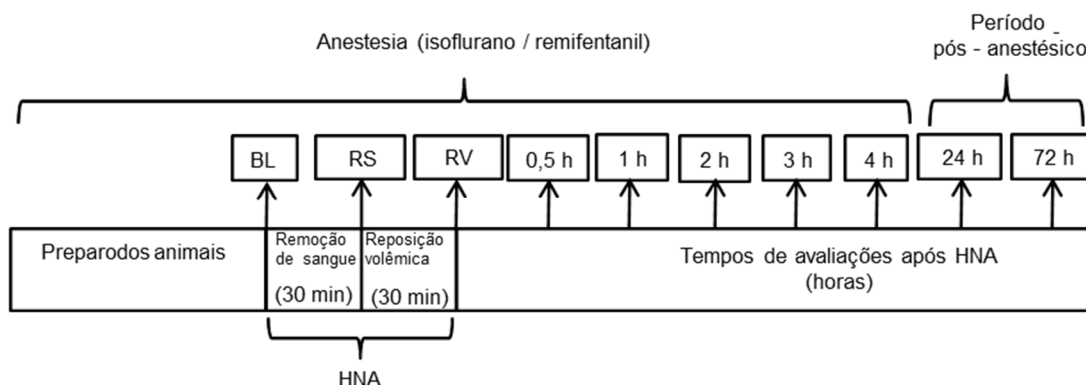


Figura 6: Protocolo experimental utilizado em 6 cães submetidos a anestesia sem a realização de hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) (tratamento controle), ou a anestesia com HNA, visando reduzir o hematócrito para 33%, através do emprego de solução de “Tetrastarch” (tratamento TS) ou Ringer Lactato (tratamento RL). As variáveis cardiorrespiratórias foram registradas no momento basal (BL), imediatamente após a remoção de sangue (RS), imediatamente após a reposição volêmica (RV) após 30 minutos RV (0,5) com TS ou RL (3 mL de RL ou 1 mL de TS para cada 1 mL de sangue removido), as mensurações seguem ao longo de 4 horas. Enquanto que as variáveis de hemostasia foram avaliadas no BL, 0,5, 2, 4 e 24 horas após RV. A função renal foi avaliada nos momentos BL, 4, 24 e 72 horas após a HNA. Fonte: material elaborado pelo autor.

3.3.5. Recuperação anestésica

Ao final da última coleta de dados, foram removidos os cateteres inseridos na veia cefálica, artéria femoral e dorsal podal, a infusão de remifentanil era interrompida e na sequência interrompia-se o isoflurano. O cateter venoso central foi mantido por um período de 24 horas após o fim da HNA. Também foram registrados os tempos de extubação (final da administração do isoflurano até o momento da extubação) e posição quadrupedal (final da administração do isoflurano até o momento em que o animal retornou à posição quadrupedal).

3.3.6. Análise estatística

Os resultados foram analisados por um programa comercial de estatística²⁴. A normalidade das amostras foi verificada pelos testes de Shapiro-

²⁴ Programa de estatística Prism 6.02, GraphPad, San Diego, Califórnia, EUA.

Wilk e Kolmogorov-Smirnov. As variáveis cardiorrespiratórias, Ht e PPT foram comparadas entre os tratamentos pela análise de variância (ANOVA) duas vias para medidas repetidas pelos 2 fatores (tempo e tratamento), seguida pelo teste de Tukey para medidas repetidas. O teste *t* pareado foi usado para comparar o VSgR nos tratamentos RL e TS.

A inspeção visual do histograma da creatinina urinária, NGAL plasmático e urinário e da relação NGAL/creatinina urinária demonstrou um padrão substancial de assimetria, resultando em coeficiente de variação elevados (> 50%). Por esta razão, aplicou-se teste não paramétrico para estas variáveis. Neste caso, utilizou-se o teste de Friedman seguido pelo teste de Dunn para comparações múltiplas. Para todas as variáveis, a hipótese nula (ausência de diferença entre tratamentos) foi rejeitada a nível de probabilidade < 0,05.

3.4. Resultados

3.4.1. Efeitos da HNA com “*Tetrastarch*” ou Ringer Lactato no Ht, PPT, EVLWI e relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$

O VSgR durante para o procedimento de HNA não diferiu entre os tratamentos RL e TS (25 ± 7 mL/kg e 23 ± 4 mL/kg, respectivamente). Durante o período de 4 horas após a RV, houve redução significativa do Ht nos tratamentos RL ($P = 0,0001 - 0,0042$) e TS ($P = < 0,0001 - 0,0441$) em relação ao grupo controle (Figura 7A). O Ht_{alvo} (33%) foi atingido nos tratamentos TS e RL 1 hora após a RV.

Os valores de PPT, de forma semelhante ao Ht, apresentaram redução significativa nos tratamentos RL e TS em comparação ao controle ($P = < 0,0001$) durante 4 horas após a RV (Figura 7B). No entanto, a PPT foi significativamente maior no tratamento TS, em relação ao tratamento RL, logo após a RV até 4 horas após a RV ($P = < 0,0001 - 0,0093$).

No tratamento TS, uma hora após à RV, observaram-se valores significativamente menores de EVLWI em relação ao tratamento controle ($P = 0,0372$) (Figura 7C). Por outro lado, após 4 horas da RV, houve significativo aumento do EVLWI no tratamento RL em comparação ao tratamento TS ($P = 0,0317$).

Imediatamente após à RS, a relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ foi significativamente menor nos tratamentos TS ($P = 0,0048$) e RL ($P = 0,0388$) em relação ao grupo controle (Figura 7D). Contudo, imediatamente após à RV, a relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ manteve-se menor em relação ao controle apenas no tratamento TS ($P = 0,0145$). Durante o período de 0,5 – 4 horas após à RV não houve diferença na relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ entre os tratamentos. A relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ se manteve $> 400\text{mmHg}$ em todos os animais durante todo o estudo.

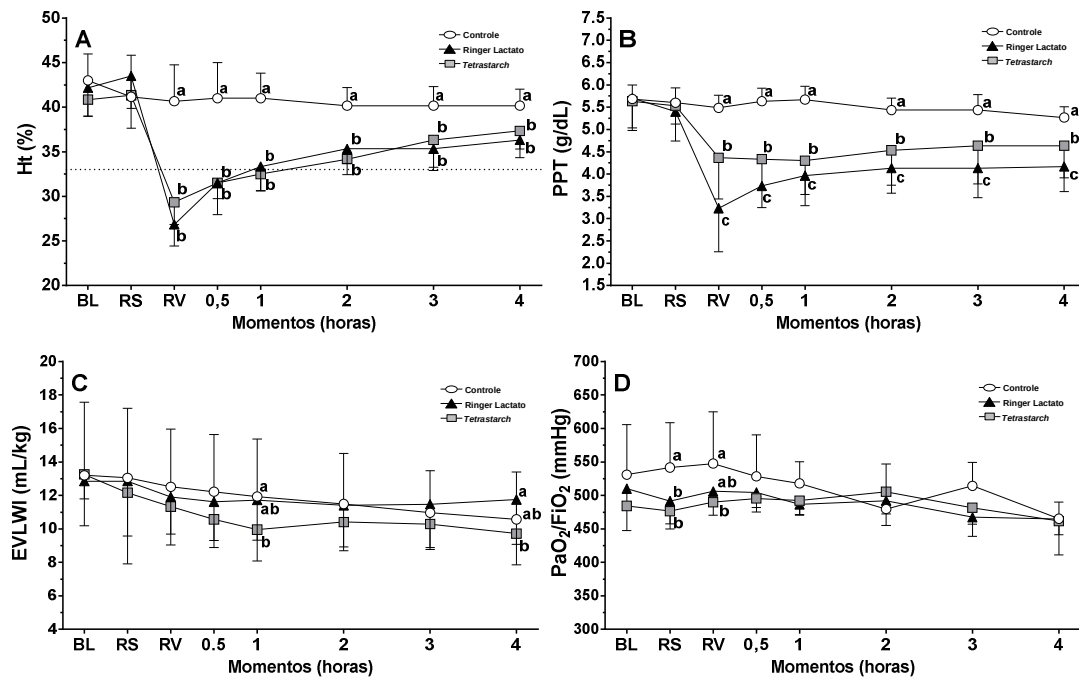


Figura 7: Representação gráfica dos valores (média $\pm$ desvio padrão) de hematócrito (Ht), proteína plasmática total (PPT), índice de água extravascular pulmonar (EVLWI) e da relação entre a pressão arterial de oxigênio e a fração de oxigênio inspirada ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$). As variáveis foram registradas durante a anestesia no momento anterior a hemodiluição normovolêmica aguda (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL e de 0,5 a 4 horas após a reposição volêmica (RV). a, b, c Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$). Fonte: material elaborado pelo autor.

3.4.2. Efeitos da HNA com “Tetrastarch” ou Ringer Lactato no ETISO e variáveis hemodinâmicas (Tabela 3)

Nenhuma das variáveis diferiu entre os tratamentos no momento BL, com exceção dos valores de IRVS, que foram significativamente menores no tratamento TS em relação ao tratamento controle ($P = 0,0078$) e dos valores de GEDVI, que foram significativamente maiores no tratamento TS em relação aos tratamentos controle ($P = 0,0005$), e RL ($P = 0,0244$) (Tabela 3).

Imediatamente após à RV, houve redução significativa a ET_{ISO} no tratamento RL em relação ao tratamento TS ($P = 0,0354$). Nos tratamentos RL e TS houve elevação significativa da FC, em relação ao controle, imediatamente após à RS ($P = < 0,0001$ para ambos os tratamentos), e de 0,5 – 4 horas após a RV [$P = 0,0005 - 0,0290$ (tratamento RL), $P = 0,0003 - 0,0334$ (tratamento TS)]. No tratamento RL, houve elevação significativa do IC em relação ao controle, desde o momento imediatamente após à RV até 4 horas após a RV ($P = < 0,0001$

– 0,0007) (exceto no momento de duas horas após a RV). No tratamento TS, houve aumento significativo do IC em relação ao controle imediatamente após à RV ($P < 0,0001$) e 30 minutos após a RV ($P = 0,0070$). No tratamento RL, houve maior elevação no IC em relação ao tratamento TS imediatamente após à RV ($P = 0,0136$), e de 0,5 – 4 horas após a RV ($P = 0,0009 - 0,0029$) (exceto nos momentos de 1 e 2 horas após a RV).

Nos tratamentos RL e TS, imediatamente após a RS, houve aumento significativo do IRVS ($P = 0,0114$ e $P = 0,0143$, respectivamente) em comparação ao controle. Subsequentemente, no tratamento RL, houve redução significativa do IRVS em relação ao controle no momento imediatamente após a RV, e de 0,5 – 4 horas após a RV ($P = 0,0001 - 0,0120$) (exceto no momento de 2 horas após a RV). No tratamento TS também houve redução significativa da IRVS em relação ao controle após a RV, porém esta redução se estendeu por 1 hora após a RV ($P = < 0,0001 - 0,0025$). No tratamento RL, houve redução significativa do IRVS em comparação ao tratamento TS imediatamente após RV ($P = 0,0026$), e as 3 e 4 horas após a RV ($P = 0,0009$ e $P = 0,0042$, respectivamente).

No tratamento RL, imediatamente após à RV, houve redução significativa nos valores da PAM em relação ao tratamento TS ($P = 0,0169$). Durante toda a anestesia os ajustes nos valores de ET_{ISO} possibilitaram manter a PAM entre 60 – 70 mmHg, exceto em 3 animais, nos quais a PAM se manteve menor que o valor alvo após a administração de TS e RL em alguns momentos (56 – 59 mmHg e 54 – 58 mmHg nos tratamentos RL e TS, respectivamente). Nestes animais, a presença de movimentação espontânea durante a anestesia impediu que reduções adicionais do ET_{ISO} fossem efetuadas com o objetivo de manter os valores de $PAM \geq 60$ mmHg.

Nos tratamentos RL e TS, imediatamente após a RS, houve redução significativa da PVC em relação ao controle ($P = 0,0007$ para ambos os tratamentos). No tratamento RL, imediatamente após a RV, houve elevação significativa da PVC em relação ao controle ($P = 0,0019$) e em relação ao tratamento TS ($P = 0,0132$). No tratamento TS, houve redução significativa da PVC em relação ao controle às 2 e 3 horas após a RV ($P = 0,0002$ e $P = 0,0007$,

respectivamente). Quando comparado ao tratamento RL, houve redução significativa da PVC no tratamento TS apenas as 2 horas após a RV ($P = 0,0052$).

Nos tratamentos RL e TS, imediatamente após a RS, houve redução significativa do GEDVI em relação ao controle ($P = 0,0265$ e $P = 0,0470$, respectivamente). Imediatamente após a RV, houve elevação no GEDVI nos tratamentos RL e TS em relação ao controle ($P = < 0,0001$ em ambos os tratamentos). Enquanto no tratamento RL houve elevação significativa do GEDVI em relação ao controle apenas 3 horas após a RV ($P = 0,0207$); no tratamento TS, a elevação significativa do GEDVI em relação ao controle, foi mantida por um período mais sustentado (de 0,5 – 3 horas após a RV) ($P = 0,0042 - 0,0253$).

Tabela 3: Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de concentração expirada de isoflurano (ET_{iso}), frequência cardíaca (FC), índice cardíaco (IC), índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) pressão arterial média (PAM), pressão venosa central (PVC) e índice de volume diastólico global final (GEDVI) observados em 6 cães adultos submetidos aos tratamentos controle, Ringer Lactato (RL) e “Tetrastarch” (TS) em um delineamento prospectivo cruzado, parcialmente aleatorizado e não encoberto. As variáveis foram registradas antes da hemodiluição normovolêmica aguda (BL), imediatamente após a remoção do sangue no período de 30 minutos (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS (tratamento TS) ou RL (tratamento RL) durante 30 minutos (RV) e durante 4 horas após a RV (momentos semelhantes foram mensurados no tratamento controle).

Variáveis	Tratamentos	Tempo após a RV (horas)							
		BL	RS	RV	0.5	1	2	3	4
ET_{iso} (%)	Controle	1,35 $\pm$ 0,51	1,37 $\pm$ 0,53	1,32 $\pm$ 0,48 ^{ab}	1,33 $\pm$ 0,49	1,32 $\pm$ 0,45	1,43 $\pm$ 0,34	1,48 $\pm$ 0,34	1,37 $\pm$ 0,43
	RL	1,37 $\pm$ 0,33	1,27 $\pm$ 0,21	1,12 $\pm$ 0,29 ^a	1,20 $\pm$ 0,06	1,33 $\pm$ 0,23	1,38 $\pm$ 0,31	1,52 $\pm$ 0,34	1,42 $\pm$ 0,29
	TS	1,53 $\pm$ 0,36	1,42 $\pm$ 0,37	1,35 $\pm$ 0,33 ^b	1,40 $\pm$ 0,32	1,42 $\pm$ 0,25	1,48 $\pm$ 0,31	1,48 $\pm$ 0,35	1,48 $\pm$ 0,33
FC (bat/min)	Controle	96 $\pm$ 27	99 $\pm$ 29 ^a	97 $\pm$ 28	97 $\pm$ 28 ^a	93 $\pm$ 24 ^a	96 $\pm$ 25 ^a	95 $\pm$ 25 ^a	99 $\pm$ 22 ^a
	RL	99 $\pm$ 24	133 $\pm$ 33 ^b	106 $\pm$ 26	113 $\pm$ 35 ^b	113 $\pm$ 33 ^b	111 $\pm$ 31 ^b	118 $\pm$ 30 ^b	122 $\pm$ 29 ^b
	TS	102 $\pm$ 26	146 $\pm$ 33 ^b	109 $\pm$ 30	112 $\pm$ 27 ^b	112 $\pm$ 29 ^b	114 $\pm$ 33 ^b	110 $\pm$ 33 ^b	123 $\pm$ 38 ^b
IC (mL/m ²)	Controle	2,80 $\pm$ 0,45	2,97 $\pm$ 0,54	2,89 $\pm$ 0,38 ^a	3,23 $\pm$ 0,48 ^a	3,31 $\pm$ 0,45 ^a	3,48 $\pm$ 0,33	3,39 $\pm$ 0,50 ^a	3,68 $\pm$ 0,42 ^a
	RL	2,97 $\pm$ 0,52	2,74 $\pm$ 0,17	5,38 $\pm$ 1,09 ^b	4,92 $\pm$ 1,84 ^b	4,39 $\pm$ 1,17 ^b	4,10 $\pm$ 0,92	4,73 $\pm$ 0,86 ^b	4,77 $\pm$ 0,92 ^b
	TS	3,20 $\pm$ 0,40	2,74 $\pm$ 0,29	4,57 $\pm$ 0,61 ^c	4,10 $\pm$ 0,67 ^c	3,98 $\pm$ 0,63 ^{ab}	3,69 $\pm$ 0,68	3,78 $\pm$ 0,64 ^a	3,72 $\pm$ 0,49 ^a
IRVS (dines/seg/cm ⁻⁵ /m ²)	Controle	1861 $\pm$ 324 ^a	1789 $\pm$ 285 ^a	1759 $\pm$ 228 ^a	1606 $\pm$ 206 ^a	1556 $\pm$ 161 ^a	1461 $\pm$ 130	1479 $\pm$ 200 ^a	1372 $\pm$ 176 ^a
	RL	1750 $\pm$ 271 ^{ab}	1990 $\pm$ 119 ^b	891 $\pm$ 218 ^b	1100 $\pm$ 318 ^b	1223 $\pm$ 259 ^b	1294 $\pm$ 271	1085 $\pm$ 168 ^b	1113 $\pm$ 177 ^b
	TS	1644 $\pm$ 204 ^b	1996 $\pm$ 176 ^b	1133 $\pm$ 149 ^c	1252 $\pm$ 187 ^b	1314 $\pm$ 242 ^b	1426 $\pm$ 178	1351 $\pm$ 170 ^a	1344 $\pm$ 158 ^a
PAM (mmHg)	Controle	65 $\pm$ 3	66 $\pm$ 3	64 $\pm$ 4 ^{ab}	65 $\pm$ 1	65 $\pm$ 3	65 $\pm$ 3	63 $\pm$ 2	63 $\pm$ 3
	RL	65 $\pm$ 2	67 $\pm$ 1	61 $\pm$ 5 ^a	63 $\pm$ 5	65 $\pm$ 4	65 $\pm$ 2	64 $\pm$ 3	65 $\pm$ 2
	TS	65 $\pm$ 2	67 $\pm$ 3	65 $\pm$ 4 ^b	64 $\pm$ 3	64 $\pm$ 2	64 $\pm$ 4	62 $\pm$ 3	61 $\pm$ 5
PVC (mmHg)	Controle	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 2 ^a	1 $\pm$ 1 ^a	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 2	1 $\pm$ 1 ^a	2 $\pm$ 2 ^a	1 $\pm$ 1
	RL	1 $\pm$ 1	-1 $\pm$ 3 ^b	3 $\pm$ 2 ^b	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 2	1 $\pm$ 1 ^a	1 $\pm$ 2 ^{ab}	0 $\pm$ 2
	TS	0 $\pm$ 1	-1 $\pm$ 1 ^b	1 $\pm$ 1 ^a	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	-1 $\pm$ 1 ^b	-1 $\pm$ 1 ^b	0 $\pm$ 1
GEDVI (mL/m ²)	Controle	637 $\pm$ 145 ^a	609 $\pm$ 125 ^a	567 $\pm$ 91 ^a	602 $\pm$ 108 ^a	587 $\pm$ 100 ^a	563 $\pm$ 75 ^a	545 $\pm$ 77 ^a	551 $\pm$ 96
	RL	668 $\pm$ 91 ^a	546 $\pm$ 92 ^b	704 $\pm$ 55 ^b	647 $\pm$ 82 ^{ab}	617 $\pm$ 64 ^{ab}	603 $\pm$ 52 ^{ab}	610 $\pm$ 44 ^b	576 $\pm$ 34
	TS	732 $\pm$ 164 ^b	551 $\pm$ 121 ^b	740 $\pm$ 187 ^b	668 $\pm$ 128 ^b	665 $\pm$ 177 ^b	627 $\pm$ 126 ^b	610 $\pm$ 139 ^b	590 $\pm$ 128

^{a, b, c} Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$)

3.4.3. Efeitos da HNA com "*Tetrastarch*" ou Ringer Lactato na recuperação anestésica

O tempo de recuperação anestésica não diferiu entre os grupos. Os animais apresentaram um tempo de extubação de 14 ± 8 minutos (média $\pm$ desvio padrão dos valores agrupados dos tratamentos) e se mantiveram em posição quadrupedal em 30 minutos (15 - 136 minutos) [mediana (valor mínimo e máximo) dos valores agrupados dos tratamentos]. Não houve intercorrências durante a recuperação anestésica nos tratamentos controle e TS. Entretanto, 3/6 animais tratados com RL, apresentaram edema palpebral, labial e de língua ao final da anestesia (anexo I e II), sendo que 1 destes animais também apresentou estridor inspiratório após ter retornado à posição quadrupedal.

3.4.4. Efeitos da HNA com "*Tetrastarch*" ou Ringer Lactato nos biomarcadores de IRA (Tabela 4)

Não houve diferenças nos valores de creatinina entre tratamentos ($P = 0,0624 - 0,9879$), com exceção do tratamento de RL onde, 4 horas após a RV, houve redução significativa nos valores de creatinina plasmática e urinária ($P = 0,0362$ e $P = 0,0117$, respectivamente), em comparação ao tratamento controle (Tabela 4). Não houve diferença entre os tratamentos para os parâmetros de NGAL plasmático ($P = 0,2500 - > 0,9999$), NGAL urinário ($P = 0,2500 - > 0,9999$), e relação NGAL/creatinina urinária ($P = 0,2500 - > 0,9999$).

Tabela 4: Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de creatinina plasmática, e medianas (valores mínimos e máximos) de creatinina urinária, lipocalina associada a gelatinase neutrofílica (NGAL) no plasma e na urina, e relação NGAL/creatinina urinária observados em 6 cães adultos submetidos aos tratamentos controle, Ringer Lactato (RL) e “*Tetrastarch*” (TS) em um delineamento prospectivo cruzado, parcialmente aleatorizado e não encoberto. As variáveis foram registradas durante a anestesia, antes da hemodiluição normovolêmica aguda (BL) e 4 horas após a RV com RL (tratamento RL) e TS (tratamento TS). Logo após o registro das mensurações as 4 horas após a RV, a anestesia foi interrompida e as variáveis foram registradas nos animais conscientes as 24 e 72 horas após a RV (momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle).

Variáveis	Tratamentos	BL	Momentos após RV (horas)		
			4	24	72
Creatinina plasmática (mg/dL)	Controle	0,77 $\pm$ 0,12	0,77 $\pm$ 0,12 ^a	0,70 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,15
	RL	0,72 $\pm$ 0,11	0,70 $\pm$ 0,08 ^b	0,65 $\pm$ 0,07	0,77 $\pm$ 0,08
	TS	0,70 $\pm$ 0,10	0,71 $\pm$ 0,11 ^{ab}	0,67 $\pm$ 0,07	0,74 $\pm$ 0,11
Creatinina urinária (mg/dL)	Controle	226 (162–353)	272 (182–370) ^a	99 (75–139)	184 (75–259)
	RL	217 (61–365)	180 (119–318) ^b	53 (38–79)	243 (105–465)
	TS	134 (82–299)	218 (129–233) ^{ab}	116 (43–189)	153 (42–371)
NGAL plasmático (pg/mL)	Controle	6396 (3562–14618)	5871 (3671–12979)	8084 (4134–15298)	7422 (5085–23968)
	RL	9318 (5653–17963)	7740 (4179–17321)	11,737 (6095–19581)	12214 (5677–25550)
	TS	9169 (3751–28978)	7576 (3445–31850)	11294 (4417–36926)	13118 (4529–31187)
NGAL urinário (pg/mL)	Controle	919 (320–5084)	1684 (921–3,524)	867 (580–5978)	1062 (398–11096)
	RL	1626 (249–4586)	606 (73–4545)	431 (206–3332)	1074 (138–9133)
	TS	286 (261–17093)	948 (260–20827)	1140 (238–4738)	887 (262–8527)
Relação NGAL/Creatinina urinária (pg/mg)	Controle	538 (122–1442)	621 (249–1470)	822 (632–6069)	671 (267–4483)
	RL	721 (143–3264)	366 (23–2631)	863 (260–5976)	381 (132–2720)
	TS	279 (87–9128)	514 (115–16114)	870 (418–6494)	373 (246–4418)

a, b, c Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$).

3.5. Discussão

Os resultados observados no presente estudo demonstram que a HNA com TS, além de não produzir evidências de injúria renal em cães saudáveis, é mais benéfica que a HNA com RL uma vez que este coloide não produz sinais clínicos de edema periférico. Em contraste com os resultados obtidos após a administração de TS, a HNA com RL resultou em sinais clínicos de edema periférico em 3/6 animais, os quais persistiram durante o período pós-anestésico imediato. A ausência de alterações significativas nas concentrações de NGAL/creatinina urinária também sugerem que a utilização do TS durante a HNA, de forma similar ao RL, não causa danos aos túbulos renais ou evidências de IRA em estágio inicial (SEGEV et al., 2013). Embora o TS apresente restrições generalizadas associadas à sua prescrição na medicina humana (MUTTER et al., 2013), não se deve extrapolar tais restrições para cães saudáveis submetidos à HNA.

No presente estudo, a administração de RL causou sinais de edema periférico em 3/6 animais, além de ter causado aumento significativo do EVLWI em relação ao tratamento TS 4 horas após a RV. Estes efeitos do RL provavelmente são resultados da diminuição da pressão coloidosmótica induzida pelos cristaloides (RUDLOFF; KIRBY, 2000; VALVERDE et al., 2012). No entanto, a formação de edema secundário à administração de cristaloides isotônicos, pode não ser causada apenas pela redução da pressão coloidosmótica, mas pode também estar relacionada às lesões causadas no glicocálice endotelial (CHAPPELL et al., 2014; CHAPPELL; JACOB, 2014). O glicocálice é uma membrana fina formada por glicoproteínas e proteoglicanos localizada próximo a parede do endotélio vascular. Esta membrana atua como uma barreira eficaz no controle da permeabilidade transvascular (CHAPPELL et al., 2014; CHAPPELL; JACOB, 2014). A hipervolemia é um fator em potencial para causar danos ao glicocálice (CHAPPELL et al., 2014; CHAPPELL; JACOB, 2014). Deste modo, a administração de grandes volumes de TS (20 mL/kg) em pacientes normovolêmicos, também pode agravar as lesões causadas nesta membrana, contribuindo assim para a formação de edema tecidual (CHAPPELL et al., 2014).

O EVLWI, mensurado pela técnica de termodiluição transpulmonar, é capaz de determinar a quantidade de líquido acumulado no espaço intersticial e alveolar, auxiliando no diagnóstico de edema pulmonar (KATZENELSON et al., 2004; FERNÁNDEZ-MONDÉJAR et al., 2005; JOZWIAK et al., 2015). Os valores médios do EVLWI observados no tratamento controle variaram entre 11 ± 2 a 13 ± 4 mL/kg. Estes valores aparentaram diferir substancialmente dos valores de EVLWI observados com técnica de mensuração semelhante em cães saudáveis sem raça definida ($9,4 \pm 3,5$ mL/kg), e em humanos sem lesão alveolar difusa (≤ 10 mL/kg) (KATZENELSON et al., 2004; TAGAMI et al., 2013; JOZWIAK et al., 2015). Entretanto é improvável que estes valores representem acúmulo anormal de água extravascular pulmonar, uma vez que o tratamento controle recebeu uma taxa relativamente pequena de fluidoterapia com RL (2 mL/kg/hora). Além deste fato, os valores de relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ elevados (> 400 mmHg) no tratamento controle demonstram que a transferência de oxigênio dos alvéolos para o sangue foi próxima do ideal. Por outro lado, após uma hora da RV, houve redução significativa do EVLWI no tratamento TS em relação ao controle. Esta redução no EVLWI também foi significativa no tratamento TS quando este foi comparado ao tratamento RL 4 horas após à RV. Contudo, não houve evidências de edema pulmonar em nenhum dos tratamentos administrados neste estudo, visto que as alterações encontradas no EVLWI não estão associadas a prejuízos na oxigenação (diminuição na relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) (HOLTE et al., 2002; AMAN et al., 2012). Estudos futuros são necessários para se estabelecer os valores de EVLWI, acima dos quais seria possível identificar o edema pulmonar em cães.

O estado hiperdinâmico induzido pela HNA com RL, caracterizado por elevação do IC e redução do IRVS, foi reportado em cães anestesiados (HABLER et al., 1996; FANTONI et al., 2005). A diminuição na pós-carga, como consequência da redução do IRVS, e um concomitante aumento na pré-carga e na contratilidade do miocárdio após a HNA, são os mecanismos envolvidos na melhora do volume sistólico e do IC após a HNA (HABLER et al., 1996; JAMNICKY et al., 2003; MURRAY 2004; MONK et al., 2005).

No presente estudo, a elevação do IC observada após a HNA com RL foi de maior magnitude e mais prolongada em comparação a HNA com TS. Entretanto, a maior duração do estado hiperdinâmico induzido pela HNA com

RL, em comparação com o TS, não deve ser atribuída a melhora na pré-carga, uma vez que o GEDVI não apresentou diferenças entre os animais tratados com TS e RL, após a RV. Estas observações contrastam com os resultados observados em suínos anestesiados submetidos a HNA (Ht_{alvo} de 15%), onde a HNA com “*Pentastarch*” a 6% resultou em estado hiperdinâmico (valores maiores de IC) quando comparado com o grupo submetido a HNA com RL (OTSUKI et al., 2007). A redução mais prolongada e sustentada da pós-carga (IRVS), observada após a administração do RL, provavelmente contribuiu para a manutenção do estado hiperdinâmico mais prolongado com o emprego do cristalóide. Outros fatores não avaliados no presente estudo, como a contratilidade miocárdica, podem ter contribuído para o aumento mais prolongado do IC observado após a HNA com RL.

No presente estudo, com base nas mensurações de NGAL e creatinina, não foram encontradas evidências que suportem a hipótese de injúria renal após a HNA com RL ou TS em cães saudáveis. Os colóides sintéticos podem causar *nefrose osmótica* em decorrência de edema/lise das células tubulares (DICKENMANN et al., 2008). Neste caso, após o TS ser metabolizado em partículas abaixo do limiar de excreção renal (45 a 60 kDa), as moléculas do coloide filtradas pelo glomérulo podem ser absorvidas pelas células tubulares proximais causando elevação da pressão oncótica intracelular. Tal efeito resulta no movimento de água para o interior das células tubulares, com consequente edema e lise celular (Dickenmann et al., 2008; GLOVER et al., 2014; ADAMIK et al., 2015; CAZZOLLI; PRITTIE, 2015). A injúria renal decorrente da administração dos colóides também pode ser explicada pela redução/obstrução do fluxo tubular, causada pela administração de soluções hiperoncóticas (“*Pentastarch*” a 10%) em pacientes desidratados (MORAN; KAPSNER, 1987; ROZICH; PAUL, 1989; BOLDT, 2009). A solução de “*Pentastarch*” a 10% resulta em evidências de lesões tubulares/IRA, tanto em modelos experimentais de sepse (SIMON et al., 2012) como em estudos clínicos randomizados realizados em humanos (BRUNKHORST et al., 2008) e em cães (HAYES et al., 2016).

Apesar da grande variabilidade das concentrações de NGAL na urina e no plasma nos cães do presente estudo, estes valores estão dentro da faixa de

variação observada em cães com ausência de IRA (COBRIN et al 2016; DAVIS et al., 2016). Os valores máximos da relação de NGAL/creatinina urinária observados no presente estudo foram registrados em um cão após a HNA com TS (16.114 pg/mg) logo após a RV com TS. Entretanto este animal já apresentava valores mais elevados de NGAL/creatinina urinária desde o momento basal (9.128 pg/mg). Além disto os valores encontrados são consideravelmente menores que o limite de detecção de formas azotêmicas de IRA em cães (relação NGAL/creatinina urinária > 120.000 pg/mg) (SEGEV et al., 2013).

A maior limitação deste estudo é o pequeno número de animais avaliados, resultando em menor poder dos testes estatísticos aplicado na detecção de alterações significativas entre os tratamentos. Além disto, por se tratar de modelo experimental, não associado a procedimentos cirúrgicos com elevado risco de sangramento, não foi possível avaliar os efeitos da HNA com RL ou TS na redução do uso de transfusões alogênicas. Outra limitação, foi o fato de que o protocolo de HNA utilizado (remoção de sangue e reposição volêmica realizados em fases distintas) não se assemelhou ao protocolo empregado clinicamente (reposição volêmica realizada concomitantemente à remoção de sangue), o qual visa prevenir a ocorrência de sinais de choque (exemplo hipotensão) (JAMNICKY et al., 2003). Todavia, no presente estudo, os sinais de choque foram evitados através do emprego de técnica de anestesia balanceada e do ajuste do ET_{ISO} afim de prevenir a hipotensão ($PAM < 60$ mmHg) durante a anestesia.

3.6.Conclusões

Diante dos resultados observados no presente estudo, conclui-se que a administração do TS é preferida em relação ao RL no contexto da HNA em cães saudáveis. Embora ambos os fluidos tenham resultado em estado hiperdinâmico, sem evidências de edema pulmonar ou prejuízos na oxigenação pulmonar, o coloide contrastou com o RL por reduzir o acúmulo de água extravascular pulmonar e não promover sinais clínicos de edema periférico. Finalmente, tanto o emprego do RL como do TS em cães saudáveis submetidos a HNA, não produz evidência de estágios iniciais de IRA por até 72 horas após a sua administração.

4. CAPÍTULO 2: “Efeitos da hemodiluição normovolêmica aguda com 6% *Tetrastarch* ou Ringer Lactato sobre a coagulação sanguínea em cães”

4.1. Resumo

Introdução: A administração de “*Tetrastarch*” (TS) pode causar distúrbios da coagulação. Entretanto, a relevância clínica destes efeitos ainda está por ser determinada em cães submetidos a hemodiluição normovolêmica aguda (HNA).

Objetivos: Comparar os efeitos da HNA com TS ou Ringer Lactato (RL) na coagulação em cães.

Material e Métodos: Seis cães (19,7–35,3 kg) foram anestesiados com isoflurano/remifentanil em 3 ocasiões. Na primeira ocasião (Fase I), os animais não foram submetidos a HNA (controle). Na Fase II, iniciada após intervalo > 2 semanas do término da Fase I, os cães foram anestesiados em 2 ocasiões para realização de HNA, em um modelo experimental cruzado randomizado (intervalo > 8 semanas). Em ambas as anestесias, o sangue removido foi repostado com TS ou RL, (3 mL de RL ou 1 mL de TS para cada 1 mL de sangue removido), visando reduzir o hematócrito para 33%. A anestesia foi mantida por 4 horas após a reposição volêmica (RV). As variáveis de coagulação foram coletadas durante a anestesia no momento basal (BL), 0,5, 2 e 4 horas após a RV e as 24 horas após a RV (cães conscientes).

Resultados: Quando comparada ao controle, a contagem de plaquetas foi significativamente ($P < 0,05$) menor entre 0,5 – 24 horas após a RV no tratamento RL; enquanto no tratamento TS houve redução significativa somente aos 30 minutos e as 24 horas após a RV. O tempo de tromboplastina parcial ativada aumentou significativamente, em relação ao controle, aos 30 minutos após a RV (tratamento RL), e as 4 horas após a RV (tratamento TS). O tempo de formação do coágulo aumentou significativamente em relação ao controle por um período mais prolongado no tratamento RL (entre 0,5–4 horas após a RV) do que no tratamento TS (entre 0,5–2 horas após a RV). O ângulo α diminuiu entre 0,5 – 4 horas após a RV no tratamento RL. No tratamento TS, o ângulo α diminuiu em relação ao controle por período idêntico (coagulação ativada pela via extrínseca) ou mais curto (0,5 – 2 horas após a RV) (coagulação ativada pela via intrínseca). A firmeza máxima do coágulo diminuiu significativamente em relação ao controle por um período idêntico para ambos os fluidos (entre 0,5–4 horas após a RV). Não encontraram-se diferenças significativas no tempo de sangramento de mucosa oral após a RV.

Conclusões: A hipocoagulabilidade induzida pela HNA com RL ou TS foi transitória (2 a 4 horas). As alterações da coagulação observadas após a HNA com TS não são maiores que às observadas após a HNA com RL. Portanto o TS provavelmente resultou em coagulopatia dilucional.

4.2. Introdução

A utilização de coloides sintéticos, como as soluções de hidroxietilamido (HES), na reposição volêmica de pacientes gravemente enfermos é controversa. Além de poderem causar injúria renal aguda em pacientes com sepse (MYBURGH et al., 2012; PERNER et al., 2012), as soluções de HES podem causar distúrbios de coagulação, potencialmente limitando seu emprego em pacientes cirúrgicos e/ou predispostos a apresentar sangramento (FENGGER-ERIKSEN et al., 2009; WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014; TOYODA et al., 2014). Os distúrbios causados na coagulação pelo HES podem ser consequência do comprometimento de vários mecanismos, incluindo: 1) Formação e inibição de fibrina em decorrência da ligação e inativação do *fator VIII* e o *fator de von Willebrand*; 2) Inibição da formação do coágulo via inibição das glicoproteínas GP IIb/IIIa localizadas na superfície de plaquetas ativadas; 3) Inibição da ligação do *fator de von Willebrand* e do fibrinogênio aos receptores GP IIb/IIIa das plaquetas ativadas; 4) Aceleração da degradação de fibrina (JUNGHEINRICH; NEFF 2005; FENGGER-ERIKSEN et al., 2009; GLOVER et al., 2014; TOYODA, 2014).

A farmacocinética do HES é diretamente relacionada ao *peso molecular médio* e a *substituição molar* (porcentagem de moléculas de glicose quimicamente modificadas pela adição de grupamentos hidroxietil) (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014). As soluções de HES com menor *peso molecular médio/substituição molar* apresentam metabolismo acelerado e, por esta razão, parecem apresentar efeitos adversos atenuados (WESTPHAL et al., 2009; GLOVER et al., 2014). O “*Tetrastarch*” (TS) é um HES de 3º geração com menor *peso molecular médio* (130 KDa) e *substituição molar* (0,4) que as outras soluções de HES a gerações anteriores, como o “*Hetastarch*” (450 KDa/0,7) e o “*Pentastarch*” (200 KDa/0,5). Os cães possuem maior capacidade de degradação e excreção das moléculas de HES do que o homem, devido à maior atividade da enzima α -amilase presente no plasma canino (YACOBI et al., 1982; GLOVER et al., 2014). Em função da remoção mais acelerada da circulação do TS, em relação as gerações anteriores de HES, a inibição direta do *fator VIII* e

do *fator de von Willebrand* podem ser mínimas, reduzindo assim o impacto negativo do TS sobre a coagulação (JUNGHEINRICH; NEFF 2005).

O TS pode induzir hipocoagulabilidade em cães (GAUTHIER et al., 2015; REUTELER et al., 2016). Estudos recentes demonstraram que a administração de grandes volumes de TS (40 mL/kg), quando comparado com volume similar de solução salina (NaCl 0,9%) causa prejuízos na coagulação em cães com endotoxemia (GAUTHIER et al., 2015). No entanto, a utilização de volumes idênticos de TS e cristaloides neste estudo dificulta reconhecer a relevância clínica da coagulopatia associada ao TS, uma vez que, em função da rápida distribuição de fluidos entre o espaço intravascular e intersticial, um volume de cristaloides 3 vezes maior que o volume de coloides seria necessário para produzir efeito expansor volêmico semelhante (BARROS et al., 2011, MILLER et al., 2015).

A hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) é uma alternativa empregada para evitar transfusões alogênicas em cirurgias com maior risco de sangramento (JAMNICKI et al., 2003; ZHOU, 2016). Durante a HNA, momentos antes da cirurgia, um volume pré-definido de sangue é removido e repostado com fluido cristalóide e/ou colóide visando reduzir o hematócrito (Ht) para um determinado valor. Durante a fase de maior sangramento, ou após o término da cirurgia, o sangue estocado pode ser transfundido para o paciente (JAMNICKI et al., 2003; ZHOU, 2016). Em suínos submetidos a HNA, os efeitos indesejados do TS na coagulação foram relativamente menores quando comparados com solução de HES de maior *peso molecular médio* (650 KDa) (THYES et al., 2006). Entretanto, ainda não se sabe o quanto o TS poderia comprometer a coagulação quando comparado a um cristalóide isotônico durante a HNA. Portanto, o presente estudo objetivou comparar o efeito da HNA com TS ou RL, sobre as variáveis de coagulação em cães saudáveis. Logo hipotetizou-se que o TS não produziria maiores interferências na coagulação além do efeito hemodilucional.

4.3. Materiais e Métodos

O presente estudo foi realizado concomitantemente a pesquisa anterior (*Capítulo 1*), a qual objetivou comparar os efeitos da HNA com TS ou RL sobre a função cardiorrespiratória e marcadores de função renal em cães. Portanto, foram empregados os mesmos cães e a metodologia foi idêntica a descrita no *capítulo 1*, diferindo apenas no que se refere as variáveis mensuradas e aos momentos de coleta de destas.

4.3.1. Hematócrito (Ht), contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP) e o tempo parcial de tromboplastina ativada (TTPa) e tempo de sangramento da mucosa oral (TSMO)

As amostras de sangue foram coletadas em seringas heparinizadas, colocadas em um tubo de microhematócrito, e em seguida foram centrifugadas²⁵ a 1500 rpm por 5 minutos para medir o Ht. A contagem de plaquetas foi realizada de forma manual na câmara de Neubauer em amostras sanguíneas contendo EDTA. O tempo de protrombina (TP) e o tempo parcial de tromboplastina ativada (TTPa) foram mensurados no sangue coletado em todos contendo citrato de sódio através de um analisador portátil²⁶.

O tempo de sangramento de mucosa oral (TSMO) foi avaliado através de um dispositivo²⁷ que, ao ser acionado, promovia uma incisão linear de 1 mm de profundidade e 5 mm de comprimento na mucosa labial. Para a realização deste teste, o lábio superior do cão foi evertido, e o dispositivo disparado. O sangramento resultante da incisão era secado com auxílio de um papel filtro posicionado abaixo do ponto de sangramento, de forma com que este não tocasse na incisão e removesse o coágulo que estava se formando. Deste modo, o TSMO foi determinado pelo tempo em que o dispositivo foi disparado até o fim

²⁵ Centrífuga de Micro Hematócrito - MH, Celm, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

²⁶ Analisador Coag Dx™, IDDEX, São Paulo, SP, Brasil.

²⁷ Dispositivo Triplatt Bleeding Time Test Device, Helena Laboratories, Beaumont, TX, EUA.

do sangramento. O TSMO foi realizado pelo mesmo pesquisador durante todo o estudo.

4.3.2. Tromboelastometria

A tromboelastometria²⁸ foi utilizada para avaliar as propriedades viscoelásticas do coágulo. Para cada amostra sanguínea, a tromboelastometria foi realizada simultaneamente em 2 canais de mensuração. Em ambos os canais foram adicionados 300µL de sangue citratado recalcificado com 20 µL de cloreto de cálcio 0,2 mol/L (starTEM®). A ativação da coagulação em um canal foi realizada pela adição de 20 µL do *fator recombinante de tecido humano* (in-TEM®)²⁹, e em outro canal pela adição de 20 µL *fosfolipídeo de tromboplastina parcial/ácido elágico* (ex-TEMt®)³⁰, os quais correspondem a via intrínseca e extrínseca da coagulação, respectivamente.

Foram avaliadas as seguintes variáveis: 1) CT (tempo de coagulação): parâmetro correspondente ao tempo para o início da formação do coágulo e formação inicial de fibrina; 2) CFT (tempo de formação do coágulo): parâmetro que reflete o tempo para formação do coágulo; 3) Ângulo α : parâmetro que representa a velocidade de acúmulo de fibrina e de ligação cruzada (nível de fibrinogênio), refletindo assim a dinâmica da formação do coágulo; 4) MCF (firmeza máxima do coágulo): medida do pico da força/resistência do coágulo, compreende o período de tempo desde o início da formação do coágulo até a obtenção da firmeza máxima.

4.3.3. Tempos de coleta das variáveis estudadas

Após o término da fase de preparo dos animais/estabilização do plano anestésico (2 horas após a intubação endotraqueal), as amostras sanguíneas para mensuração do Ht, variáveis relacionadas a hemostasia primária (contagem de plaquetas e TSMO) e secundária (TP, TTPa e tromboelastometria) foram

²⁸ ROTEM delta, Tem International GmbH, Munich, Alemanha.

²⁹ in-TEM, Tem International GmbH, Munich, Alemanha.

³⁰ ex-TEM, Tem International GmbH, Munich, Alemanha.

coletadas no momento basal (BL) e o procedimento de HNA com RL ou TS foi realizado durante 1 hora, conforme descrito no *capítulo 1*. Os parâmetros acima descritos foram novamente mensurados durante a anestesia as 0,5, 2, 3 e 4 horas após a reposição volêmica com RL ou TS. Após a coleta das variáveis as 4 horas após a administração dos fluidos, a anestesia foi interrompida e novas mensurações foram realizadas as 24 horas após a reposição volêmica (Figura 8).

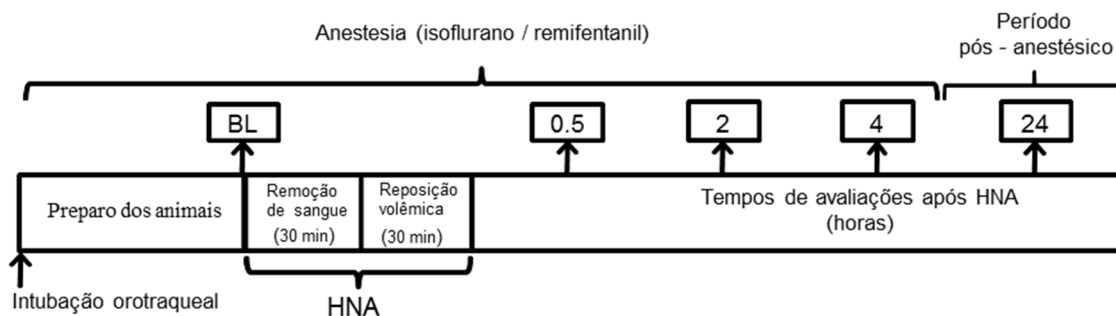


Figura 8: Protocolo experimental utilizado durante o experimento. A hemodiluição normovolêmica aguda (HNA), visando reduzir o hematócrito a 33%, foi realizada durante 60 minutos. As variáveis foram registradas no momento basal (BL), após 2 horas da intubação endotraqueal, e as 0,5, 2 e 4 horas após a reposição volêmica durante a anestesia, e as 24 horas após a reposição nos cães conscientes. Os momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle (não submetido a HNA). Fonte: material elaborado pelo autor.

4.3.4. Análise estatística

Os resultados foram analisados por um programa de estatística³¹. Verificou se a normalidade das amostras através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para realizar comparação entre grupos foi utilizado análise de variância (ANOVA) bifatorial, com medidas repetidas para ambos os fatores (tratamento e tempo), seguida pelo teste de Tukey para medidas repetidas. O teste *t* pareado foi usado para comparar o volume total de sangue retirado entre os grupos tratados com RL e TS. Para todas as variáveis, a probabilidade de erro tipo II (ausência de diferença entre tratamentos) foi rejeitada a um nível de significância < 0,05.

³¹Programa de estatística Prism 6.02, GraphPad, San Diego, Califórnia, EUA.

4.4. Resultados

4.4.1. Efeitos da HNA com RL ou TS sobre o Ht, TP, TTPa, contagem de plaquetas e TSMO

O volume total de sangue removido para realizar o procedimento de hemodiluição não diferiu entre os tratamentos RL e TS (25 ± 7 mL/kg e 23 ± 4 mL/kg, respectivamente). Nos tratamentos RL e TS, de 0,5 – 24 horas após a RV, houve redução significativa do Ht em relação ao controle, ($P = < 0,0001 - 0,0197$ e $P = < 0,001 - 0,0013$, respectivamente). As 24 horas após a RV, o Ht no tratamento TS foi significativamente maior que no tratamento RL ($P = 0,0197$) (Tabela 5).

A contagem de plaquetas foi significativamente menor no tratamento RL em relação ao controle de 0,5 – 24 horas após a RV ($P = < 0,0001 - 0,0019$). Por outro lado, comparativamente ao tratamento controle, o tratamento TS reduziu significativamente a contagem de plaquetas apenas após 0,5 hora e 24 horas da RV ($P = < 0,0001$ e $P = 0,0314$, respectivamente).

Os valores médios de TP e TTPa foram mantidos dentro do intervalo de referência para cães fornecido pelo fabricante do equipamento (11 – 17 segundos e TTPa (72 – 102 segundos). Aos 30 minutos após a RV, houve redução significativa do TP no tratamento TS, comparativamente aos tratamentos controle ($P = 0,0381$) e RL ($P = 0,0065$). Houve elevação significativa do TTPa em relação ao controle aos 30 minutos após a RV no tratamento RL ($P = 0,0311$) e as 4 horas após a RV no tratamento TS ($P = 0,0481$).

O TSMO se manteve dentro dos valores normais para a espécie canina (< 240 segundos) durante todo o estudo. Houve elevação significativa do TSMO no tratamento RL em relação ao tratamento TS no momento basal ($P = 0,0183$). Entretanto, após a RV, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 5. Média $\pm$ desvio padrão dos valores de hematócrito (Ht), contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo de sangramento de mucosa oral (TSMO) observada em 6 cães submetidos a hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) com Ringer Lactato (tratamento RL) ou “*Tetrastarch*” (tratamento TS). As variáveis foram registradas antes da hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) no momento basal (BL), e as 0,5, 2 e 4 horas após a reposição volêmica (RV) (animais anestesiados), Nova coleta foi realizada as 24 horas após a RV nos animais conscientes (anestesia interrompida após coleta de parâmetros as 4 horas após RV). Momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle. ^{a, b, c} Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$).

Variáveis	Tratamentos	BL	Tempo após a RV (horas)			
			0,5	2	4	24
Hematócrito (%)	Controle	43 $\pm$ 3	41 $\pm$ 4 ^a	40 $\pm$ 2 ^a	40 $\pm$ 2 ^a	45 $\pm$ 3 ^a
	RL	41 $\pm$ 2	32 $\pm$ 2 ^b	34 $\pm$ 2 ^b	37 $\pm$ 3 ^b	36 $\pm$ 3 ^b
	TS	42 $\pm$ 3	32 $\pm$ 4 ^b	35 $\pm$ 2 ^b	36 $\pm$ 1 ^b	39 $\pm$ 3 ^c
Contagem de plaquetas (células/ μ L)	Controle	332.038 $\pm$ 43.698	346.346 $\pm$ 66.870 ^a	326.567 $\pm$ 36.088 ^a	316.467 $\pm$ 48.033 ^a	313.521 $\pm$ 43.071 ^a
		322.779 $\pm$ 57.099	212.521 $\pm$ 45.630 ^b	261.758 $\pm$ 60.971 ^b	252.079 $\pm$ 67.308 ^b	241.558 $\pm$ 35.193 ^b
	RL	302158 $\pm$ 41,725	232.300 $\pm$ 27.706 ^b	290.796 $\pm$ 54.189 ^{ab}	293.742 $\pm$ 39.817 ^{ab}	267.525 $\pm$ 15.957 ^b
TP (seg)	Controle	15 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1 ^a	17 $\pm$ 3	15 $\pm$ 2	13 $\pm$ 1
	RL	14 $\pm$ 1	16 $\pm$ 2 ^a	15 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1
	TS	14 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1 ^b	16 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1
TTPa (seg)	Controle	72 $\pm$ 9	73 $\pm$ 9 ^a	75 $\pm$ 14	73 $\pm$ 9 ^a	80 $\pm$ 11
	RL	75 $\pm$ 12	92 $\pm$ 29 ^b	82 $\pm$ 15	83 $\pm$ 9 ^{ab}	87 $\pm$ 6
	TS	79 $\pm$ 15	89 $\pm$ 24 ^{ab}	90 $\pm$ 14	91 $\pm$ 16 ^b	79 $\pm$ 10
TSMO (seg)	Controle	61 $\pm$ 16 ^{ab}	63 $\pm$ 15	57 $\pm$ 14	56 $\pm$ 12	97 $\pm$ 40
	RL	86 $\pm$ 22 ^a	56 $\pm$ 14	60 $\pm$ 19	52 $\pm$ 15	80 $\pm$ 38
	TS	50 $\pm$ 16 ^b	74 $\pm$ 21	79 $\pm$ 35	51 $\pm$ 21	76 $\pm$ 39

4.4.2. Efeitos da HNA com TS ou RL avaliados pela tromboelastometria

Os resultados da tromboelastometria, obtidos pela ativação da coagulação pelas vias extrínseca (ex-TEM) e intrínseca (in-TEM), são apresentados na Tabela 6. Aos 30 minutos após a RV, houve elevação no CT_{ex-TEM} nos tratamentos RL ($P = 0,0342$) e TS ($P = 0,0052$) em relação ao controle. No tratamento RL houve elevação significativa nos valores de CFT_{ex-TEM} e CFT_{in-TEM} em relação ao controle entre 0,5 – 4 horas após a RV [$P = < 0,0001 - 0,0083$ (CFT_{ex-TEM}) e $P = < 0,0001 - 0,0163$ (CFT_{in-TEM})]. No tratamento TS, a elevação significativa no CFT_{ex-TEM} e CFT_{in-TEM} em relação ao controle foi observada aos 30 minutos [$P = 0,0102$ (CFT_{ex-TEM}) e $P = 0,0004$ (CFT_{in-TEM})] e 2 horas após a RV ($P = 0,0045$ (CFT_{ex-TEM}) $P = 0,0002$ (CFT_{in-TEM})).

Houve redução significativa no ângulo $\alpha_{\text{ex-TEM}}$ em relação ao controle somente no tratamento RL entre 0,5 – 4 horas após a RV ($P = < 0,0001 - 0,0088$). Neste mesmo período, o ângulo $\alpha_{\text{ex-TEM}}$ também foi significativamente menor no tratamento RL em relação ao tratamento TS ($P = < 0,0001 - 0,0088$).

Para o ângulo $\alpha_{\text{in-TEM}}$, entre 0,5 – 4 horas após a RV, houve redução significativa no tratamento RL em relação ao controle ($P = < 0,0015 - 0,0179$). No tratamento TS, houve redução significativa do ângulo $\alpha_{\text{in-TEM}}$ aos 30 minutos ($P = < 0,0134$) e as 2 horas após a RV ($P = < 0,0005$).

A $\text{MCF}_{\text{ex-TEM}}$ no momento BL do tratamento RL foi significativamente menor em relação ao controle ($P = 0,0126$). Houve redução significativa da $\text{MCF}_{\text{ex-TEM}}$ no tratamento RL, em relação ao controle, entre 0,5 – 4 horas após a RV ($P = < 0,0001$). No tratamento TS, houve redução significativa da $\text{MCF}_{\text{ex-TEM}}$, comparativamente ao controle, por um período idêntico ($P = < 0,0001 - 0,0048$).

Para a $\text{MCF}_{\text{in-TEM}}$, observou-se redução significativa no tratamento RL em relação ao controle entre 0,5 – 4 horas após a RV ($P = < 0,0001 - 0,0143$). No tratamento TS, houve redução significativa deste parâmetro em relação ao controle por período idêntico ($P = 0,0037 - 0,0488$).

Tabela 6. Variáveis derivadas da tromboelastometria em amostras de sangue citratado onde a coagulação foi ativada pela via intrínseca (in-TEM) e extrínseca (ex-TEM): tempo de coagulação (CT), tempo de formação do coágulo (CFT), ângulo α e firmeza máxima do coágulo (MCF). Os valores são apresentados como média ($\pm$ desvio padrão) observadas em 6 cães submetidos a hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) com Ringer Lactato (tratamento RL) ou “*Tetrastarch*” (tratamento TS). As variáveis foram registradas antes da hemodiluição normovolêmica aguda (HNA) no momento basal (BL), e as 0,5, 2 e 4 horas após a reposição volêmica (RV) (animais anestesiados). Nova coleta foi realizada as 24 horas após a RV nos animais conscientes (anestesia interrompida após coleta de parâmetros as 4 horas após RV). Momentos semelhantes foram considerados no tratamento controle.

Variáveis	Tratamento	Tempo após a RV (horas)				
		BL	0,5	2	4	24
CT _{ex-TEM} (seg)	Controle	40 $\pm$ 10	37 $\pm$ 2 ^a	43 $\pm$ 8	41 $\pm$ 12	35 $\pm$ 7
	RL	49 $\pm$ 17	57 $\pm$ 30 ^b	54 $\pm$ 16	56 $\pm$ 18	34 $\pm$ 14
	TS	44 $\pm$ 16	63 $\pm$ 14 ^b	47 $\pm$ 8	48 $\pm$ 18	48 $\pm$ 17
CFT _{ex-TEM} (seg)	Controle	96 $\pm$ 12	96 $\pm$ 10 ^a	89 $\pm$ 14 ^a	92 $\pm$ 14 ^a	90 $\pm$ 11
	RL	106 $\pm$ 12	129 $\pm$ 43 ^b	118 $\pm$ 25 ^b	113 $\pm$ 24 ^b	100 $\pm$ 17
	TS	95 $\pm$ 8	116 $\pm$ 22 ^b	111 $\pm$ 18 ^b	104 $\pm$ 16 ^{ab}	91 $\pm$ 12
Ângulo α _{ex-TEM} (°)	Controle	70,8 $\pm$ 2,3	70,7 $\pm$ 2,0 ^a	72,2 $\pm$ 2,5 ^a	71,5 $\pm$ 2,8 ^a	72,3 $\pm$ 2,2
	RL	69,8 $\pm$ 2,9	67,3 $\pm$ 2,8 ^b	67,2 $\pm$ 3,3 ^b	67,8 $\pm$ 4,2 ^b	71,3 $\pm$ 1,9
	TS	70,8 $\pm$ 2,3	70,7 $\pm$ 2,0 ^a	72,2 $\pm$ 2,5 ^a	71,5 $\pm$ 2,8 ^a	72,3 $\pm$ 2,2
MCF _{ex-TEM} (mm)	Controle	62,0 $\pm$ 3,4 ^a	62,7 $\pm$ 3,3 ^a	61,7 $\pm$ 4,3 ^a	62,2 $\pm$ 3,6 ^a	66,2 $\pm$ 3,3
	RL	57,8 $\pm$ 4,7 ^b	52,5 $\pm$ 5,2 ^b	53,7 $\pm$ 5,8 ^b	54,8 $\pm$ 5,7 ^b	64,2 $\pm$ 2,9
	TS	60,8 $\pm$ 3,4 ^{ab}	54,7 $\pm$ 3,5 ^b	56,7 $\pm$ 3,1 ^b	57,5 $\pm$ 3,9 ^b	63,8 $\pm$ 4,4
CT _{in-TEM} (seg)	Controle	116 $\pm$ 23	109 $\pm$ 16	105 $\pm$ 17	113 $\pm$ 11	105 $\pm$ 33
	RL	120 $\pm$ 21	105 $\pm$ 41	108 $\pm$ 17	115 $\pm$ 18	121 $\pm$ 30
	TS	106 $\pm$ 14	97 $\pm$ 29	93 $\pm$ 23	109 $\pm$ 25	106 $\pm$ 33
CFT _{in-TEM} (seg)	Controle	76 $\pm$ 13	80 $\pm$ 15 ^a	75 $\pm$ 13 ^a	84 $\pm$ 23 ^a	76 $\pm$ 13
	RL	93 $\pm$ 16	133 $\pm$ 46 ^b	116 $\pm$ 32 ^b	109 $\pm$ 23 ^b	82 $\pm$ 15
	TS	77 $\pm$ 16	116 $\pm$ 32 ^b	112 $\pm$ 18 ^b	100 $\pm$ 20 ^{ab}	81 $\pm$ 11
Ângulo α _{in-TEM} (°)	Controle	76,2 $\pm$ 2,3	74,8 $\pm$ 2,4 ^a	75,5 $\pm$ 2,4 ^a	75,2 $\pm$ 2,5 ^a	76,5 $\pm$ 4,5
	RL	73,3 $\pm$ 2,7	69,7 $\pm$ 6,9 ^b	70 $\pm$ 3,6 ^b	71 $\pm$ 3,2 ^b	73,8 $\pm$ 2,6
	TS	75,8 $\pm$ 3,3	70,5 $\pm$ 2,8 ^b	69,5 $\pm$ 4,1 ^b	72,8 $\pm$ 2,9 ^{ab}	74 $\pm$ 2,1
MCF _{in-TEM} (mm)	Controle	60,2 $\pm$ 3,2	61 $\pm$ 4,1 ^a	61,2 $\pm$ 3,1 ^a	60 $\pm$ 4,8 ^a	64,3 $\pm$ 3,3
	RL	55,5 $\pm$ 3,8	51,8 $\pm$ 4,5 ^b	52,5 $\pm$ 3,9 ^b	54,2 $\pm$ 3,3 ^b	59,8 $\pm$ 7,3
	TS	58,5 $\pm$ 2,7	55,7 $\pm$ 3,4 ^b	54,3 $\pm$ 2,6 ^b	55,2 $\pm$ 4,7 ^b	62 $\pm$ 4

a, b, c Médias seguidas por letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($P < 0,05$).

4.4. Discussão

A HNA com o TS resultou em coagulopatia dilucional, uma vez que, no contexto da HNA, a hipocoagulabilidade sanguínea induzida pelo coloide foi equivalente ou menor que hipocoagulabilidade induzida por um volume 3 vezes maior de RL. O aumento no CFT induzido pela HNA com TS foi de duração mais curta em comparação a HNA com RL (2 e 4 horas, respectivamente). Enquanto a redução na MCF_{in-TEM} foi semelhante a MCF_{ex-TEM} tanto na magnitude quanto na duração (4 horas) para ambos os fluidos, TS e RL. Como o TS não causou maior interferência nas propriedades viscoelásticas do coágulo do que o RL, pode-se inferir que o TS provavelmente não exerceu ação inibitória direta dos fatores de coagulação no contexto da HNA.

As alterações na hemostasia induzidas pela HNA com RL ou TS, foram comparadas com as alterações na hemostasia observadas nos mesmos animais submetidos ao mesmo protocolo experimental, porém sem a realização da HNA (delineamento cruzado). Este modelo experimental possui a vantagem de evitar situações de viés causadas por diferenças nas respostas individuais as intervenções terapêuticas/procedimentos avaliados. Embora a HNA com TS e RL tenha reduzido a velocidade de formação e firmeza do coágulo (ângulo α e MCF, respectivamente), os valores médios dos parâmetros derivados da tromboelastometria, a exceção dos valores médios do CT_{in-TEM} , se mantiveram dentro dos intervalos de referência previamente publicados por outro laboratório (FALCO et al., 2012). Estas observações reforçam a hipótese de que o TS poderia ser administrado como fluido de RV durante a HNA sem agravar o sangramento em cães saudáveis.

Em estudos comparando o efeito de diferentes fluidos na coagulação, diferenças no grau de diluição dos fatores de coagulação podem representar um viés importante. Em cães submetidos ao choque hemorrágico hipotensivo (pressão arterial média entre 40 – 50 mmHg), a *expansão volêmica efetiva* (expansão efetiva do volume plasmático dividida pelo volume infundido) do RL foi diminuída de 38% aos 5 minutos após o RL, para aproximadamente 11% aos 90 minutos após o RL (BARROS et al., 2011). Em contraste, a expansão volêmica efetiva do TS foi próxima a 100% no mesmo período (BARROS et al.,

2011). Portanto, a relação entre o volume de RL administrado e o volume de sangue removido (3/1) para a HNA poderia não ser suficiente para compensar a redistribuição do RL entre os compartimentos intravascular e extravascular. Contudo, devido as reduções semelhantes do Ht, observadas por até 4 horas após a RV com TS ou RL, sugere-se que a relação entre o volume do fluido de reposição e o volume de sangue removido (3/1 para o RL e 1/1 para o TS) promoveu grau semelhante de hemodiluição. Em contrapartida, o RL causou redução mais consistente na contagem de plaquetas (entre 0,5 – 24 horas após a RV) em relação ao controle; enquanto o TS reduziu a contagem de plaquetas em relação ao controle de forma menos consistente (30 minutos e 24 horas após a RV). Esta diferença sugere que o grau de hemodiluição causado pelo RL poderia ser maior que o promovido pelo TS. Apesar da RV com ambos os fluidos ter reduzido a contagem de plaquetas, os valores médios permaneceram dentro da faixa normal para cães (200.000 – 500.000 plaquetas/ μ L). Além deste fato, a redução da contagem de plaquetas provavelmente não afetou a hemostasia primária, uma vez que o TSMO não diferiu entre os tratamentos entre 0,5 – 24 horas após a RV.

O HES pode interferir na atividade e na concentração do *fator de von Willebrand*, o que resulta em prejuízos na agregação plaquetária (hemostasia primária) (ZOZEK-LANGENECK, 2005; GLOVER et al., 2014; GAUTHIER et al., 2015). A administração de volumes elevados de TS (40 mL/kg) diminui as concentrações do *fator de von Willebrand*, quando comparado com volume semelhante de solução salina (NaCl 0,9%) em cães, sugerindo que a administração de coloide pode inibir a hemostasia primária (GAUTHIER et al., 2015). Entretanto estudos recentes têm mostrado que a administração de TS após o choque hemorrágico em cães não altera a hemostasia primária (função plaquetária) além de um efeito exclusivamente dilucional (MC BRIDE et al., 2016). Contrastando com o efeito das soluções de HES com elevado *peso molecular médio*, o TS apresenta pouco impacto na agregação plaquetária em humanos (WIERENGA et al., 2007; SCHADEN et al., 2012). Apesar da atividade do *fator de von Willebrand* ou a agregação plaquetária não tenham sido avaliados no presente estudo, observaram-se evidências de que a hemostasia

primária não foi alterada pelos fluidos empregados, uma vez que o TSMO não diferiu entre os tratamentos após a RV.

Embora a atividade do *fator VIII* não tenha sido avaliada no presente estudo, há evidências de que as soluções de HES podem interferir no *fator VIII*, causando inibição da via intrínseca da coagulação por 2 mecanismos diferentes: 1) diminuição direta da atividade do *fator VIII*, através de um mecanismo dilucional; 2) ligação e inativação direta do *fator VIII* (ARELLANO et al., 2005; TOYODA et al., 2014). Embora a diminuição da atividade do *fator VIII* possa ser observada com a administração de soluções de HES de *elevado peso molecular médio* (ARELLANO et al., 2005), doses relativamente elevadas de TS em humanos (50 – 70 mL/kg) e em cães (40 mL/kg) não reduziram a concentração do *fator VIII* (KASPER et al., 2003; NEFF et al., 2003; GAUTHIER et al., 2015).

Tanto o RL como o TS induziram aumento transitório no TTPa (aos 30 minutos e 4 horas após a RV, respectivamente), além da diminuição na MCF_{ex-TEM} e MCF_{in-TEM} de magnitude e duração similar para ambos os fluidos. Estes resultados suportam a hipótese de que a hipocoagulabilidade induzida pelo TS é atribuída exclusivamente a um efeito dilucional. Além disto, estas observações estão de acordo com o conceito de que as soluções de HES com menor *peso molecular médio* e menor *substituição molar*, como o TS, causam menor interferência na coagulação do que as soluções de HES com *elevado peso molecular médio* e *elevado grau de substituição molar* (ENTHOLZNER et al., 2000; JUNGHEINRICH; NEFF 2005; THYES et al., 2006; WESTPHAL et al., 2009; TOYODA et al., 2014).

Interessantemente, o TP não foi afetado por nenhum dos fluidos, ou diminuiu transitoriamente após 30 minutos da administração do TS. A diminuição do TP poderia ser interpretada como um aumento na velocidade de coagulação da via extrínseca. Embora as alterações no TP e TTPa tenham apresentado significância estatística, estas observações são de pouca relevância clínica, uma vez que os valores observados encontram-se dentro do intervalo de referência para cães.

A principal limitação do presente estudo está relacionada ao reduzido tamanho amostral da população estudada, o que poderia ter resultado em

redução do poder estatístico dos testes aplicados (menor probabilidade de demonstrar diferenças mais discretas entre os tratamentos). Entretanto, esta limitação foi em parte compensada pelo delineamento experimental cruzado. Outro problema potencial, foi o fato de que o TSMO e MCF_{ex-TEM} diferiram entre tratamentos no momento BL (antes da realização da HNA), o que poderia sugerir que o intervalo entre tratamentos (> 2 semanas entre o tratamento controle e os demais tratamentos e > 8 semanas entre os tratamentos RL e TS) não tenha sido o suficiente para eliminar um efeito residual associado as intervenções realizadas. Entretanto, os valores TSMO e MCF_{ex-TEM} no momento BL não se apresentaram fora dos valores de referência (FALCO et al., 2012). Além disto, o intervalo de 8 semanas entre os procedimentos envolvendo HNA foi substancialmente maior que o tempo mínimo requerido para recuperação das células sanguíneas após doação de sangue em cães (10 dias) (FERREIRA et al., 2014). As diferenças observadas para os parâmetros de TSMO e MCF_{ex-TEM} foram relativamente pequenas e podem ser atribuídas a erro do tipo I (rejeição da hipótese nula quando ela é verdadeira).

4.5. Conclusão

O estado de hipocoagulabilidade induzido pela HNA com RL e TS foi transitório (2 – 4 horas). A HNA com TS não causa interferência maior na coagulação que a observada após a HNA com RL. Portanto, estes resultados sugerem que o TS administrado como fluido de RV na HNA induziu coagulopatia dilucional. São necessários estudos futuros visando determinar se a HNA com TS, quando comparada a HNA com cristaloides, não aumentaria o risco e/ou intensidade do sangramento em pacientes cirúrgicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMIK, K.N.; YOZOVA, I.D.; REGENSCHEIT, N. Controversies in the use of hydroxyethyl starch solutions in small animal emergency and critical care. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.25, n.1, p.20–47, jan–feb 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12283>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

AHN, H.J.; HYUN, C. Evaluation of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) activity in dogs with chronic kidney disease. **Vet Rec**, v.173, n.18, p.452, nov 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1136/vr.101829>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

AMAN, J.; GROENEVELD, A.B.; VAN NIEUW AMERONGEN, G.P. Predictors of pulmonary edema formation during fluid loading in the critically ill with presumed hypovolemia. **Crit Care Med**, v.40, n.3, p.793–9, mar 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1097/CCM.0b013e318236f2df>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ANNANE, D. et al. Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. **JAMA**, v.310, n.17, p.1809–17, nov 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1001/jama.2013.280502>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ARELLANO, R. et al. A triple-blinded randomized trial comparing the hemostatic effects of large-dose 10% hydroxyethyl starch 264/0.45 versus 5% albumin during major reconstructive surgery. **Anesth Analg**, v.100, n.6, p.1846–53, jun

2005. Disponível em: <<http://doi:10.1213/01.ANE.0000152008.04333.53>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BARROS, J. M. et al. The effects of 6% hydroxyethyl starch-hypertonic saline in resuscitation of dogs with hemorrhagic shock. **Anesth Analg**, v.112, n.2, p.395–404, feb 2011. Disponível em: <<http://doi:10.1213/ANE.0b013e3181f2e9b2>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BAYER, O. et al. Renal effects of synthetic colloids and crystalloids in patients with severe sepsis: a prospective sequential comparison. **Crit Care Med**, v.139, n.6, p.1335–42, jun 2011. Disponível em: <http://doi:10.1097/CCM.0b013e318212096a>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BOLDT, J. PRO: hydroxyethyl starch can be safely used in the intensive care patient the renal debate. **Intensive Care Med**, v.35, n.8, p.1331–6, aug 2009. Disponível em: <<http://doi:10.1007/s00134-009-1520-6>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BOLLIGER, D.; GÖRLINGER, K.; TANAKA, K.A. Pathophysiology and treatment of coagulopathy in massive hemorrhage and hemodilution. **Anesthesiology**, v.113, n.5, p.1205–19, nov 2010. Disponível em: <<http://doi:10.1097/ALN.0b013e3181f22b5a>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BRAUN, J.P.; LEFEBVRE, H.P.; WATSON, A.D. Creatinine in the dog: a review. **Vet Clin Pathol**, v.32, n.4, p.162–79, 2003. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1939-165X.2003.tb00332.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BRUNKHORST, F.M. et al. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. **N Engl J Med**, v.358, n.2, p.125–39, jan 2008. Disponível em: <<http://doi:10.1056/NEJMoa070716>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

BRYSON, G.L. et al. Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. The International Study of Perioperative Transfusion. **Anesth analg**, v.86, n.1, p.9–15, jan 1998. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9428843>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CAZZOLLI, D.; PRITTIE, J. The crystalloid-colloid debate: Consequences of resuscitation fluid selection in veterinary critical care. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.25, n.1, p.6–19, jan–feb 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12281>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CHAPPELL, D. et al. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. **Crit Care**, v.18, n.5, p.538, oct 2014. Disponível em: <<http://doi:10.1186/s13054-014-0538-5>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CHAPPELL, D.; JACOB, M. Role of the glycocalyx in fluid management: small things matter. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, v.28, n.3, p.227–34, sep 2014. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.bpa.2014.06.003>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CHOHAN, A. et al. Effects of 6% hetastarch (600/0.75) or lactated Ringer's solution on hemostatic variables and clinical bleeding in healthy dogs anesthetized for orthopedic surgery. **Vet Anaesth Analg**, v.38, n.2, p.94–105,

mar 2011. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1467-2995.2010.00589.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CITTANOVA, D.L. et al. Effect of hydroxyethyl starch in brain-dead kidney donors on renal function in kidney-transplant recipients. **Lancet**, v.348, n.9042, p.1620-2, dec 1996. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)07588-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(96)07588-5)>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CLASSEN, J. et al. In vitro effect of hydroxyethyl starch 130/0.42 on canine platelet function. **Am J Vet Res**, v.73, n.12, p.1908–12, dec 2012. Disponível em: <<http://doi:10.2460/ajvr.73.12.1908>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

COBRIN, A.R. et al. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. **J Small Anim Pract**, v.54, n.12, p.647–55, dec 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1111/jsap.12150>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

COBRIN, A.R. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dogs with chronic kidney disease, carcinoma, lymphoma and endotoxaemia. **J Small Anim Pract**, v.57, n.6, p.291–8, jun 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/jsap.12481>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DART, A.B. et al. Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function. **Cochrane Database Syst Rev**, v.1, CD007594, jan 2010. Disponível em: <<http://doi:10.1002/14651858.CD007594.pub2>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DAVIDOW, B. Transfusion medicine in small animals. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v.43, n.4, p. 735-56, jul 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.cvsm.2013.03.007>>. Acesso em: 25 jan.

DAVIS, J. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin concentration changes after acute haemorrhage and colloid-mediated reperfusion in anaesthetized dogs. **Vet Anaesth Analg**, v.43, n.3, p.262–70, may 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vaa.12311>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DEVARAJAN, P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. **Curr Opin Pediatr**, v.23, n.2, p.194–200, apr 2011. Disponível em: <<http://doi:10.1097/MOP.0b013e328343f4dd>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DICKENMANN, M.; OETTL, T.; MIHATSCH, M.J. Osmotic nephrosis: acute kidney injury with accumulation of proximal tubular lysosomes due to administration of exogenous solutes. **Am J Kidney Dis**, v.51, n.3, p.491–503, mar 2008. Disponível em: <<http://doi:10.1053/j.ajkd.2007.10.044>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DOSS, D.N. et al. Mechanism of systemic vasodilation during normovolemic hemodilution. **Anesth Analg**, v.81, n.1, p.30–4, jul 1995. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7541185>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

EMAa, EUROPEAN MEDICINED AGENCY, EMA. PRAC recommends suspending marketing authorisations for infusion solutions containing hydroxyethyl-starch. London: EMA/349341, 13 jun 2013. Disponível em : <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Solutions_for_infusion_containing_hydroxyethyl_starch/Recommendation_prov>

ided_by_Pharmacovigilance_Risk_Assessment_Committee/WC500144448.pdf
> Acesso em: 25 jan. 2017.

EMAb, EUROPEAN MEDICINED AGENCY, EMA. Hydroxyethyl-starch solutions (HES) no longer to be used in patients with sepsis or burn injuries or in critically ill patients: HES will be available in restricted patient populations. London: EMA/ 809470, 19 dez. 2013. Disponível: <
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Solutions_for_infusion_containing_hydroxyethyl_starch/European_Commission_final_decision/WC500162361.pdf> Acesso em: 25 jan. 2017.

ENTHOLZNER, E.K. et al. Coagulation effects of a recently developed hydroxyethyl starch (HES 130/0.4) compared to hydroxyethyl starches with higher molecular weight. **Acta Anaesthesiol Scand**, v.44, n.9, p.1116–21, oct 2000. Disponível em: <<https://doi:10.1034/j.1399-6576.2000.440914.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ESPER, S.A.; WATERS, J.H. Intra-operative cell salvage: a fresh look at the indications and contraindications. **Blood Transfus**, v.9, n.2, p.139–47, apr 2011. Disponível em: <<http://doi:10.2450/2011.0081-10>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

FALCO, S. et al. In vitro evaluation of canine hemostasis following dilution with hydroxyethyl starch (130/0.4) via thromboelastometry. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v22, n.6, p.640–5, dec 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1476-4431.2012.00816.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

FANTONI, D.T. et al. A comparative evaluation of inhaled halothane, isoflurane, and sevoflurane during acute normovolemic hemodilution in dogs. **Anesth Analg**, v.100, n.4, p.1014–9, apr 2005. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1476-4431.2012.00816.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

FDA, U.S. Food and Drug Administration. Hydroxyethyl Starch Solutions: FDA Safety Communication - Boxed Warning on Increased Mortality and Severe Renal Injury and Risk of Bleeding. Silver Spring: FDA, 6 nov. 2013. Disponível: <<http://www.fda.gov/safety/medwatch/safetyinformation/safetyalertsforhumanmedicinalproducts/ucm358349.htm>> Acesso em: 25 jan. 2017.

FENGER-ERIKSEN, C. et al. Mechanisms of hydroxyethyl starch-induced dilutional coagulopathy. **J Thromb Haemost**, v.7, n.7, p.1099–105, jul 2009. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03460.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

FERNÁNDEZ-MONDÉJAR, E. et al. Small increases in extravascular lung water are accurately detected by transpulmonary thermodilution. **J Trauma**, v.59, n.6, p.1420–3, dec 2005. Disponível em: <<http://doi:10.1097/01.ta.0000198360.01080.42>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

FERREIRA, R.R. et al. Effects of repeated blood donations on iron status and hematologic variables of canine blood donors. **J Am Vet Med Assoc**, v.244, n.11, p.1298–303, jun 2014. Disponível em: <<http://doi:10.2460/javma.244.11.1298>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GAROFALO, N. A. et al. Comparison of transpulmonary thermodilution and calibrated pulse contour analysis with pulmonary artery thermodilution cardiac

output measurements in anesthetized dogs. **J Vet Intern Med**, v.30, n.4, p.941–50, jul 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/jvim.13984>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GAUTHIER, V.et al. Effect of synthetic colloid administration on hemodynamic and laboratory variables in healthy dogs and dogs with systemic inflammation. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.24, n.3, p.251–8, may–jun 2014. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12188>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GAUTHIER, V.et al. Effect of synthetic colloid administration on coagulation in healthy dogs and dogs with systemic inflammation. **J Vet Intern Med**, v.29, n.1, p. 276–85, jan; 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1111/jvim.12492>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GLOVER, P.A.; RUDLOFF, E.; KIRBY R. Hydroxyethyl starch: a review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, current products, and potential clinical risks, benefits, and use. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.24, n.6, p.642–61, nov–dec 2014. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12208>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GOLDBERG, J. et al. Greater Volume of Acute Normovolemic Hemodilution May Aid in Reducing Blood Transfusions After Cardiac Surgery. **Ann Thorac Surg**, v.100, n.6, p.1581–7, nov 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.athoracsur.2015.04.135>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GOODNOUGH, L.T. Autologous blood donation. **Anesthesiol Clin North America**, v.23, n.2, p.263–70, jun 2005. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.atc.2004.07.003>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GOODNOUGH, L.T. et al. A randomized trial comparing acute normovolemic hemodilution and preoperative autologous blood donation in total hip arthroplasty. **Transfusion**, v.40, n.9, p.1054–7, sep 2000. Disponível em: <PMID: 10988305>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GRANT, M.C.; RESAR, L.M.; FRANK, S.M. The Efficacy and Utility of Acute Normovolemic Hemodilution. **Anesth Analg**, v.121, n.6, p.1412–4, dec 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1213/ANE.0000000000000935>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GROSS, J.B. Estimating allowable blood loss: corrected for dilution. **Anesthesiology**, v.58, n.3, p.277–80, mar 1983. Disponível em: <<http://anesthesiology.pubs.asahq.org/article.aspx?articleid=1956492>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

GUIDET, B. et al. Assessment of hemodynamic efficacy and safety of 6% hydroxyethylstarch 130/0.4 vs. 0.9%NaCl fluid replacement in patients with severe sepsis: the CRYSTMAS study. **Crit Care**, v.16, n.3, R94, may 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1186/cc11358>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HAASE, N. et al. Hydroxyethyl starch 130/0.38–0.45 versus crystalloid or albumin in patients with sepsis: systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. **BMJ**, v.15, feb 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1136/bmj.f839>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HAASE, N.R. Hydroxyethyl starch in sepsis. **Dan Med J**, v.61, n.1, p.B4764, jan 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24393593>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HABLER, O.P. et al. The effect of acute normovolemic hemodilution (ANH) on myocardial contractility in anesthetized dogs. **Anesth Analg**, v.83, n.3, p.541–, sep 1996. Disponível em: <PMID: 8780262>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HALLOWELL, P. et al. Transfusion of fresh autologous blood in open-heart surgery. A method for reducing bankblood requirements. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v.64, n.6, p.941–8, dec 1972. Disponível em: <PMID: 4636011>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HAN, S. et al. Safety of the Use of Blood Salvage and Autotransfusion During Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. **Ann Surg**, v.264, n.2, p.339–43, aug 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1097/SLA.0000000000001486>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HARKE, H. et al. [The influence of different plasma substitutes on blood clotting and platelet function during and after operations (author's transl)]. **Anaesthesist**, v.25, n.8, p.366–73, aug 1976. Disponível em: <PMID: 60065>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HASKELL, L.P.; TANNENBERG, A.M. Elevated urinary specific gravity in acute oliguric renal failure due to hetastarch administration. **N Y State J Med**, v.88, n.7, p.387–8, jul 1988. Disponível em: <PMID: 2457189>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HAYES, G.; BENEDICENTI, L.; MATHEWS K. Retrospective cohort study on the incidence of acute kidney injury and death following hydroxyethyl starch (HES 10% 250/0.5/5:1) administration in dogs (2007–2010). **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.26, n.1, p.35–40, jan–feb 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12412>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

HOLTE, K.; SHARROCK, N.E.; KEHLET H. Pathophysiology and clinical implications of perioperative fluid excess. **Br J Anaesth**, v.89, n.4, p.622–32, oct 2002. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12412>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JAMES M.F. et al. Resuscitation with hydroxyethyl starch improves renal function and lactate clearance in penetrating trauma in a randomized controlled study: the FIRST trial (Fluids in Resuscitation of Severe Trauma). **Br J Anaesth**, v.107, n.5, 693–702, nov 2011. Disponível em: <<http://doi:10.1093/bja/aer229>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JAMNICKI, M. et al. Acute normovolemic hemodilution: physiology, limitations, and clinical use. **J Cardiothorac Vasc Anesth**, v.17, n.6, p.747–54, dec 2003. Disponível em: <PMID:14689419>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JAMNICKI, M. et al. Low and medium molecular weight hydroxyethyl starches: comparison of their effect on blood coagulation. **Anesthesiology**, v.93, n.5, p.1231–7, nov 2000. Disponível em: <PMID: 11046211>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JARNAGIN, W.R. et al. A prospective randomized trial of acute normovolemic hemodilution compared to standard intraoperative management in patients undergoing major hepatic resection. **Ann Surg**, v.248, n.3, p.360–9, sep 2008. Disponível em: <<http://doi:10.1097/SLA.0b013e318184db08>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JOZWIAK, M.; TEBOUL, J.L.; MONNET, X. Extravascular lung water in critical care: recent advances and clinical applications. **Ann Intensive Care**, v.5, n.1, 38, dec 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1186/s13613-015-0081-9>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JUNGHEINRICH, C.; NEFF, T.A. Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch. **Clin Pharmacokinet**, v.44, n.7, p.681–699, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15966753>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

JUNGHEINRICH, C. et al. Volume efficacy and reduced influence on measures of coagulation using hydroxyethyl starch 130/0.4 (6%) with an optimised in vivo molecular weight in orthopaedic surgery : a randomised, double-blind study. **Drugs R D**, v.5, n.1, p.1–9, 2004. Disponível em: <PMID: 14725484>. Acesso em: 25 jan. 2017.

KASPER, S.M. et al. Large-dose hydroxyethyl starch 130/0.4 does not increase blood loss and transfusion requirements in coronary artery bypass surgery compared with hydroxyethyl starch 200/0.5 at recommended doses. **Anesthesiology**, v.99, n.1, p.42–7, Jul 2003. Disponível em: <<http://anesthesiology.pubs.asahq.org/article.aspx?articleid=1942709>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

KATZENELSON, R. et al. Accuracy of transpulmonary thermodilution versus gravimetric measurement of extravascular lung water. **Crit Care Med**, v.32, n.7, p.1550–4, jul 2004. Disponível em: <PMID:15241101>. Acesso em: 25 jan. 2017.

KOZEK-LANGENECKER, S.A. Effects of hydroxyethyl starch solutions on hemostasis. **Anesthesiology**, v.103, n.3, p.654-60, sep 2005. Disponível em: <<http://anesthesiology.pubs.asahq.org/article.aspx?articleid=2026138>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

KREIMEIER, U.; MESSMER, K. Perioperative hemodilution. **Transfus Apher Sci**, v.27, n.1, p.59–72, aug 2002. Disponível em: <PMID: 12201472 >. Acesso em: 25 jan. 2017.

LEMSON, J. et al. Validation of transpulmonary thermodilution cardiac output measurement in a pediatric animal model. **Pediatr Crit Care Med**, v.9, n.3, p.313–9, may 2008. Disponível em: <<http://doi:10.1097/PCC.0b013e31816c6fa1>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

LETCHER, R.L. et al. Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects. Role of fibrinogen and concentration. **Am J Med**, v.70, n.6, p.1195–1202, jun 1981. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7234890>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

LICKER, M. et al. Cardiovascular response to acute normovolemic hemodilution in patients with coronary artery diseases: Assessment with transesophageal echocardiography. **Crit Care Med**, v.33, n.3, p.591–7, mar 2005. Disponível em: <PMID:15753752>. Acesso em: 25 jan. 2017.

LOBO, S.M. et al. Anemia e Transfusões de Concentrados de Hemácias em Pacientes Graves nas UTI Brasileiras (pelo FUNDO-AMIB). **Ver Bras Ter Intensiva**, v.18, n.3, p.234–41, sep 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-507X2006000300004>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MAHMOOD, A.; GOSLING, P.; VOHRA, R.K. Randomized clinical trial comparing the effects on renal function of hydroxyethyl starch orgelatine during aortic aneurysm surgery. **B J Surg**, v.94, n.4, p.427–33, apr 2007. Disponível em: <<http://doi:10.1002/bjs.5726>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MAITHEL, S.K.; JARNAGIN, W.R. Adjuncts to liver surgery: is acute normovolemic hemodilution useful for major hepatic resections? **Adv Surg**, v.43, p.259–68, 2009. Disponível em: <PMID:19845184>. Acesso em: 25 jan. 2017.

McBRIDE, D. et al. Platelet closure time in anesthetized Greyhounds with hemorrhagic shock treated with hydroxyethyl starch 130/0.4 or 0.9% sodium chloride infusions. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.26, n.4, p.509–15, jul 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12468>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MILLER, T.E.; ROCHE, A.M.; MYTHEN, M. Fluid management and goal-directed therapy as an adjunct to Enhanced Recovery After Surgery (ERAS). **Can J Anaesth**, v.62, n.2, p.158–68, feb 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1007/s12630-014-0266-y>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MOCHARLA, H.; MOCHARLA, R.; HODES, M.E. Alpha-amylase gene transcription in tissues of normal dog. **Nucleic Acids Res**, v.25, n.4, p.1031–6, feb 1990. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC330360/>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MONK, T.G. et al. Acute normovolemic hemodilution is a cost-effective alternative to preoperative autologous blood donation by patients undergoing radical retropubic prostatectomy. **Transfusion**, v.35, n.7, p.55–65, jul 1995. Disponível em: <PMID: 7631387>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MONK, T.G. et al. Acute normovolemic hemodilution. **Anesthesiol Clin North America**, v.23, n.2, p.271–81, jun 2005. Disponível em: <<https://doi:10.1016/j.atc.2005.03.002>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MOORE, L.E.; GARVEY, M.S. The effect of hetastarch on serum colloid oncotic pressure in hypoalbuminemic dogs. **J Vet Intern Med**, v.10, n.5, p.300–3, sep-oct 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8884715>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MORAN, M.; KAPSNER, C. Acute renal failure associated with elevated plasma oncotic pressure. **N Engl J Med**, v.317, n.3, p.150–3, jul 1987. Disponível em: <<http://doi:10.1056/NEJM198707163170306>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MORRIS, B.R. et al. Effects of in vitro hemodilution with crystalloids, colloids, and plasma on canine whole blood coagulation as determined by kaolin-activated thromboelastography. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.26, n.1, p.58–63, jan–feb 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12345>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MURRAY, D. Acute normovolemic hemodilution. **Eur Spine J**, v.13, n.1, p.S72–5, oct 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3592192/>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MUTTER, T.C.; RUTH, C.A.; DART, A.B. Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function. **Cochrane Database Syst Rev**, v.23, n.7, CD007594, jul 2013. Disponível em: <<http://10.1002/14651858.CD007594.pub3>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

MYBURGH, J.A. et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. **N Engl J Med**, v.367, n.20, p.1901–11, nov 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1056/NEJMoa1209759>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

NABITY, M.B. et al. Urinary biomarkers of renal disease in dogs with X-linked hereditary nephropathy. **J Vet Intern Med**, v.26, n.2, p.282–93, mar–apr 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1939-1676.2012.00891.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

NEFF, T.A. et al. Repetitive large-dose infusion of the novel hydroxyethyl starch 130/0.4 in patients with severe head injury. **Anesth Analg**, v.96, n.5, p.1453–9, mai 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12707149>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

NICKOLAS, T.L. et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. **Ann Intern Med**, v.148, n.11, p.810–9, jun 2008. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2909852/>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

OPPITZ, P.P., STEFANI, M.A. Acute normovolemic hemodilution is safe in neurosurgery. **World Neurosurg**, v.79, n.5–6, p.719–24, may–jun 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.wneu.2012.02.041>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

OTSUKI, D.A. et al. Hydroxyethyl starch is superior to lactated Ringer as a replacement fluid in a pig model of acute normovolaemic haemodilution. **Br J Anaesth**, v.98, n.1, p.29–37, jan 2007. Disponível em: <<http://doi:10.1002/14651858.CD007594.pub3>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

PALOMO, I.F. et al. Antiagregantes plaquetarios: mecanismos de acción y riesgos asociados al uso. **VITAE**, v.16, n.1, p.133–143, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a16.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

PERNER, A. et al. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. **N Engl J Med**, v.367, n.5, p.481, aug 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1056/NEJMoa1204242>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

PLISKOW, B. et al. A novel approach to modeling acute normovolemic hemodilution. **Comput Biol Med**, v.68, p.155–64, jan 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.combiomed.2015.11.003>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

QURESHI, S.H. et al. Meta-analysis of colloids versus crystalloids in critically ill, trauma and surgical patients. **Br J Surg**, v.103, n.1, p.14–26, jan 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1002/bjs.9943>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

REEH, M. et al. Allogenic Blood Transfusion is Associated with Poor Perioperative and Long-Term Outcome in Esophageal Cancer. **World J Surg**, v.41, n.1, p.208–215, oct. 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1007/s00268-016-3730-8>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

REUTELER, A. et al. Comparison of the effects of a balanced crystalloid-based and a saline-based tetrastarch solution on canine whole blood coagulation and platelet function. **J Vet Intern Med**, v.27, n.1, p.23–34, jan 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12556>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ROSS, L. Acute kidney injury in dogs and cats. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v.41, n.1, p.1–14, jan 2011. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.cvsm.2010.09.003>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ROZICH, J.D.; PAUL, R.V. Acute renal failure precipitated by elevated colloid osmotic pressure. **Am J Med**, v.87, n.3, p.359–60, sep 1989. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2773975>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

RUDLOFF, E.; KIRBY, R. Colloid osmometry. **Clin Tech Small Anim Pract**, v.15, n.3, p.119–25, aug 2000. Disponível em: <[http://doi:10.1053/S1096-867\(00\)80030-4](http://doi:10.1053/S1096-867(00)80030-4)>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SAKKA, S.G.; REUTER, D.A; PEREL, A. The transpulmonary thermodilution technique. **J Clin Monit Comput**, v.26, n.5, p.347–53, out 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1007/s10877-012-9378-5>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SANTOS A.A. et al. Therapeutic options to minimize allogeneic blood transfusions and their adverse effects in cardiac surgery: a systematic review. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, v.29, n.4, p.606–21, dec 2014. Disponível em: <<http://doi:10.5935/1678-9741.20140114>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SCHABINSKI, F. et al. Effects of a predominantly hydroxyethyl starch (HES)-based and a predominantly non HES-based fluid therapy on renal function in surgical ICU patients. **Intensive Care Med**, v.35, n.9, p.1539–47, sep 2009. Disponível em: <<http://doi:10.1007/s00134-009-1509-1>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SCHADEN, E. et al. Effect of the carrier solution for hydroxyethyl starch on platelet aggregation and clot formation. **Br J Anaesth**, v.109, n.4, p.572–7, out 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1093/bja/aes229>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SCHMIDT-OTT, K.M. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v.15, n.4, p.442–9, jul 2006. Disponível em: <<http://doi:10.1097/01.mnh.0000232886.81142.58>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SCHORTGEN, F. et al. Effects of hydroxyethylstarch and gelatin on renal function in severe sepsis: a multi centre randomised study. **Lancet**, v.357,

n.9260, p.911–6, mar 2001. Disponível em: <[http://doi:10.1016/S0140-6736\(00\)04211-2](http://doi:10.1016/S0140-6736(00)04211-2)>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SCHORTGEN, F. et al. Preferred plasma volume expanders for critically ill patients: results of an international survey. **Intensive Care Med**, v.30, n.12, p.2222–9, dec 2004. Disponível em: <<http://doi:10.1007/s00134-004-2415-1>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SCHOU, H. et al. Hemodilution significantly decreases tolerance to isoflurane-induced cardiovascular depression. **Acta Anaesthesiol Scand**, v.41, n.2, p.218–28, feb 1997. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1399-6576.1997.tb04669.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SEGAL, J.B. et al. Preoperative acute normovolemic hemodilution: a meta-analysis. **Transfusion**, v.44, n.5, p.632–44, may 2004. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1537-2995.2004.03353.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SEGEV, G. et al. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of kidney injury in dogs. **J Vet Intern Med**, v.27, n.6, p.1362–7, nov-dec 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1111/jvim.12180>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SERPA NETO et al. Fluid resuscitation with hydroxyethyl starches in patients with sepsis is associated with an increased incidence of acute kidney injury and use of renal replacement therapy: a systematic review and meta-analysis of the literature. **J Crit Care**, v.29, n.1, p.185.e 1–7, feb 2014. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.jcrc.2013.09.031>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SIMON, T.P. et al. Impairment of renal function using hyperoncotic colloids in a two hit model of shock: a prospective randomized study. **Crit Care**, v.16, n.1, R16, jan 2012. Disponível em: <<http://doi:10.1186/cc11161>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SPADA, E. et al. Activity, specificity, and titer of naturally occurring canine anti-DEA 7 antibodies. **J Vet Diagn Invest**, v.28, n.6, p.705–708, nov 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1177/1040638716668626>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

SPAHN, D.R. et al. Cardiovascular and coronary physiology of acute isovolemic hemodilution: a review of nonoxygen-carrying and oxygen-carrying solutions. **Anesth Analg**, v.78, n.5, p.1000–21, may 1994. Disponível em: <PMID:8160966>. Acesso em: 25 jan. 2017.

TAGAMI, T. et al. Quantitative diagnosis of diffuse alveolar damage using extravascular lung water. **Crit Care Med**, v.41, n.9, p.2144–50, sep 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1097/CCM.0b013e31828a4643>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

TAGAMI, T. et al. Validation of extravascular lung water measurement by single transpulmonary thermodilution: human autopsy study. **Crit Care**, v.14, n.5, R162, 2010. Disponível em: <<http://doi:10.1186/cc9250>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

TANAKA, M.; NISHIKAWA, T. Hemodilution does not alter arterial baroreflex control of heart rate in anesthetized dogs. **Anesth Analg**, v.96, n.1, p.28–32, jan 2003. Disponível em: <PMID:12505918>. Acesso em: 25 jan. 2017.

THOMPSON, W.L. et al. Intravascular persistence, tissue storage, and excretion of hydroxyethyl starch. **Surg Gynecol Obstet**, v.131, n.5, p.965–72, nov 1970. Disponível em: <PMID:5471548>. Acesso em: 25 jan. 2017.

THYES, C. et al. Effect of high and low-molecular-weight low-substituted hydroxyethyl starch on blood coagulation during acute normovolemic hemodilution in pigs. **Anesthesiology**, v.105, n.6, p.1228–37, dec 2006. Disponível em: <PMID:17122586>. Acesso em: 25 jan. 2017.

TOYODA, D.; SHINODA, S.; KOTAKE, Y. Pros and cons of tetrastarch solution for critically ill patients. **J Intensive Care**, v.25, n.2, p.23, mar 2014. Disponível em: < <http://doi:10.1186/2052-0492-2-23>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

VALVERDE, A. et al. Effects of high-volume, rapid-fluid therapy on cardiovascular function and hematological values during isoflurane-induced hypotension in healthy dogs. **Can J Vet Res**, v.76, n.2, p.99–108, apr 2012. Disponível em: <PMID:23024452>. Acesso em: 25 jan. 2017.

VAN DER LINDEN, P. et al. Safety of modern starches used during surgery. **Anesth Analg**, v.116, n.1, p.35–48, jan 2013. Disponível em: <<http://doi:10.1213/ANE.0b013e31827175da>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

VAN DER LINDEN, P.; SAKR, P. Acute Normovolemic Hemodilution in Cardiac Surgery. **TATM**, v.7, n.1, p.11–19, nov 2005. Disponível em: <ISSN: 1295-9022>. Acesso em: 25 jan. 2017.

VAN DER LINDEN, P.; ICKX, B.E. The effects of colloid solutions on hemostasis. **Can J Anaesth**, 53, s.6, S30–9, jun 2006. Disponível em: <PMID: 16766789>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WALDHAUSEN, P. [Hydroxyethyl starch-induced transient renal failure in preexisting glomerular damage]. **Act Med Austriaca**, v.18, s.1, p.52–5, 1991. Disponível em: <PMID:1719732>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WATERS, J.H.; DONNENBERG, A.D. Blood salvage and cancer surgery: should we do it? **Transfusion**, v.49, p.2016–2018, out 2009. Disponível em: <[http://doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02379.x](http://doi:10.1111/j.1537-2995.2009.02379.x)>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WEISKOPF, R.B. Efficacy of acute normovolemic hemodilution assessed as a function of fraction of bloodvolume lost. **Anesthesiology**, v.94, n.3, p.439–46, mar 2001. Disponível em: <PMID:11374603>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WESTPHAL, M. et al. Hydroxyethyl starches: different products different effects. **Anesthesiology**, v.111, n.1, p.187–202, jul 2009. Disponível em: <<http://doi:10.1097/ALN.0b013e3181a7ec82>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WIEDERMANN, C.J. et al. Hyperoncotic colloids and acute kidney injury: a meta-analysis of randomized trials. **Crit Care**, v.14, n.5, R191, 2010. Disponível em: <<http://doi:10.1186/cc9308>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WIERENGA, J.R. et al. In vitro comparison of the effects of two forms of hydroxyethyl starch solutions on platelet function in dogs. **Am J Vet Res**, v.68,

n.6, p.605–9, jun 2007. Disponível em: <<http://doi:10.2460/ajvr.68.6.605>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WIESEN, P. et al. Effect of hydroxyethylstarch on renal function in cardiac surgery: a large scale retrospectivestudy. **Acta Anaesthesiol Belg**, v.56, n.3, p.257–63, 2005. Disponível em: <PMID:16265828>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WONG E.C.C. Acute Normovolemic Hemodilution: A Critical Evaluation of Its Safety and Utility in Pediatric Patients. **TATM**, v.6, n.2, p.10–21, jul 2004. Disponível em: <<http://doi:10.1111/j.1778-428X.2004.tb00113.x>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

WURLOD, V.A. Comparison of the in vitro effects of saline, hypertonic hydroxyethyl starch, hypertonic saline, and two forms of hydroxyethyl starch on whole blood coagulation and platelet function in dogs. **V Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.25, n.4, p.474–87, jul-ago 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12320>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

YACOBI, A. et al. Pharmacokinetics of high molecular weight hydroxyethyl starch in dogs. **Res Comm Chem Pathol Pharmacol**, v.36, n.2, p.199–204, may 1982. Disponível em: <PMID:6179136>. Acesso em: 25 jan. 2017.

YOZOVA, I.D.; HOWARD, J.; ADAMIK, K.N. Retrospective evaluation of the effects of administration of tetrastarch (hydroxyethyl starch 130/0.4) on plasma creatinine concentration in dogs (2010-2013): 201 dogs. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, v.26, n.4, p.568–77, jul 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1111/vec.12483>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ZHOU, J. A review of the application of autologous blood transfusion. **Braz J Med Biol Res**, v.49, n.9, e:5493, aug 2016. Disponível em: <<http://doi:10.1590/1414-431X20165493>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

ZHOU, X. et al. Preoperative Acute Normovolemic Hemodilution for Minimizing Allogeneic Blood Transfusion: A Meta-Analysis. **Anesth Analg**, v.121, n.6, p.1443–55, dec 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1213/ANE.0000000000001010>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

APÊNDICES

Apêndice A- Índice cardíaco (IC, L/min/m²) apresentado em média individual para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

ÍNDICE CARDÍACO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	3,30	3,31	3,09	3,57	4,14	3,57	3,47	3,76
2	Controle	2,87	2,96	2,61	3,34	3,47	3,47	3,60	4,30
3	Controle	2,24	2,35	2,63	2,87	2,97	2,95	2,77	3,04
4	Controle	2,70	3,15	3,23	3,15	3,26	3,77	3,72	3,79
5	Controle	3,36	3,72	3,34	3,86	3,18	3,84	3,98	3,79
6	Controle	2,44	2,35	2,42	2,55	2,88	3,27	2,78	3,42
1	HES	2,96	2,51	3,98	3,34	2,97	3,44	3,51	3,67
2	HES	3,27	3,16	4,24	3,77	3,99	3,32	3,32	3,60
3	HES	2,62	2,42	4,50	4,20	3,74	3,11	3,21	3,06
4	HES	3,64	3,01	5,54	5,30	4,71	5,01	4,95	4,57
5	HES	3,64	2,70	4,12	3,83	3,86	3,47	3,97	3,68
6	HES	3,07	2,61	5,04	4,14	4,60	3,79	3,72	3,75
1	RL	2,53	2,60	3,96	3,48	3,00	3,08	3,72	3,59
2	RL	2,73	2,58	4,50	3,88	3,79	3,81	4,31	4,34
3	RL	2,69	2,78	5,70	4,20	3,69	3,21	4,46	4,81
4	RL	3,61	3,01	7,02	4,55	5,24	4,62	4,99	5,07
5	RL	3,65	2,84	5,95	4,90	4,42	4,37	4,66	4,48
6	RL	2,61	2,61	5,12	8,54	6,22	5,50	6,26	6,34

Apêndice B- Índice do volume sistólico (IVS, mL/batimento/m²) apresentado em média individual para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

ÍNDICE SISTÓLICO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	44,6	46,7	43,5	50,3	56,6	50,3	43,9	44,8
2	Controle	28,2	28,7	26,3	34,8	37,7	37,7	39,1	46,7
3	Controle	27,9	29,0	30,2	31,9	34,1	36,9	33,8	38,9
4	Controle	20,8	22,5	23,3	22,7	25,1	26,9	28,2	27,3
5	Controle	26,9	29,5	28,5	32,5	28,4	37,0	34,0	35,8
6	Controle	36,5	31,7	36,1	37,5	44,3	38,0	42,2	37,2
1	HES	40,6	26,5	49,8	37,5	38,6	40,0	37,4	39,8
2	HES	33,0	27,2	54,3	45,4	48,6	41,5	47,5	42,9
3	HES	27,8	14,6	39,8	35,0	34,3	35,4	36,1	33,6
4	HES	25,8	17,3	34,9	34,0	30,2	31,3	30,6	27,1
5	HES	29,1	17,5	35,5	31,4	30,7	26,1	29,6	26,3
6	HES	37,4	15,4	45,8	39,8	38,7	28,3	33,2	23,4
1	RL	34,1	28,5	54,2	43,5	38,9	45,3	51,7	41,8
2	RL	25,1	22,6	48,4	49,1	48,6	44,8	43,5	40,2
3	RL	34,5	25,8	57,6	43,7	37,7	30,6	41,3	49,1
4	RL	27,8	17,5	46,8	36,1	36,4	31,9	35,1	32,7
5	RL	30,4	19,1	49,6	38,9	35,1	35,2	33,5	34,0
6	RL	31,0	15,8	49,7	50,5	40,6	39,0	42,3	41,2

Apêndice C- Frequência cardíaca (FC, batimentos/min) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

FREQUÊNCIA CARDÍACA									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	74	71	71	71	73	71	79	84
2	Controle	102	103	99	96	92	92	92	92
3	Controle	80	81	87	90	87	80	82	78
4	Controle	130	140	139	139	130	140	132	139
5	Controle	125	126	117	119	112	104	117	106
6	Controle	67	74	67	68	65	86	66	92
1	HES	73	95	80	89	77	86	94	92
2	HES	99	116	78	83	82	80	70	84
3	HES	94	166	113	120	109	88	89	91
4	HES	141	174	159	156	156	160	162	169
5	HES	125	154	116	122	126	133	134	140
6	HES	82	169	110	104	119	134	112	160
1	RL	74	91	73	80	77	68	72	86
2	RL	109	114	93	79	78	85	99	108
3	RL	78	108	99	96	98	105	108	98
4	RL	130	172	150	126	144	145	142	155
5	RL	120	149	120	126	126	124	139	132
6	RL	84	165	103	169	153	141	148	154

Apêndice D- Pressão arterial média (PAM, mmHg) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	63	66	65	66	66	68	64	66
2	Controle	69	67	61	65	69	65	62	61
3	Controle	64	60	61	64	64	61	61	61
4	Controle	60	66	68	64	64	65	66	62
5	Controle	63	68	60	67	60	62	62	61
6	Controle	68	68	67	65	64	66	64	67
1	HES	68	67	69	64	63	65	64	63
2	HES	66	66	65	66	64	63	64	67
3	HES	63	62	61	66	63	57	57	54
4	HES	68	69	70	67	63	66	66	58
5	HES	64	67	63	61	67	63	63	63
6	HES	63	69	64	59	61	69	60	62
1	RL	65	65	64	70	60	63	63	62
2	RL	62	66	61	62	68	68	68	67
3	RL	64	67	60	56	62	64	61	64
4	RL	66	68	59	60	69	63	61	64
5	RL	67	68	66	65	64	64	64	65
6	RL	65	67	53	67	67	66	64	66

Apêndice E- Índice de resistência vascular sistêmica (IRVS, dinas/seg/cm⁵) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

ÍNDICE RESISTÊNCIA VASCULAR SISTÊMICA									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	1524,8	1567,6	1655,0	1476,6	1275,2	1498,9	1475,5	1402,7
2	Controle	1919,3	1757,3	1809,3	1506,2	1542,3	1427,2	1331,7	1115,0
3	Controle	2287,4	2037,7	1856,0	1726,0	1723,1	1626,1	1642,7	1605,4
4	Controle	1773,9	1697,8	1680,1	1621,8	1594,6	1379,4	1396,5	1307,7
5	Controle	1499,1	1460,8	1436,6	1364,7	1506,5	1268,1	1245,4	1285,4
6	Controle	2158,3	2211,6	2116,4	1941,2	1693,7	1563,2	1780,3	1518,3
1	HES	1835,2	2192,9	1384,3	1532,7	1720,5	1532,0	1433,0	1395,1
2	HES	1589,0	1695,2	1169,7	1379,2	1262,7	1514,5	1538,6	1464,9
3	HES	1924,0	2046,2	1083,0	1237,2	1389,0	1513,8	1467,8	1438,2
4	HES	1493,4	1908,4	980,1	994,8	1068,2	1068,0	1064,3	1030,7
5	HES	1384,1	2014,9	1182,3	1229,9	1364,7	1450,0	1268,8	1368,6
6	HES	1640,9	2115,4	999,6	1138,7	1076,6	1476,9	1331,9	1364,9
1	RL	2056,2	2000,3	1271,4	1608,4	1573,6	1609,4	1330,2	1378,0
2	RL	1724,0	1983,7	993,9	1216,2	1369,2	1362,6	1168,3	1197,7
3	RL	1897,9	1981,6	798,8	1065,9	1364,1	1592,2	1110,4	1079,1
4	RL	1436,7	1881,9	637,2	1053,5	1051,4	1089,6	992,9	1040,1
5	RL	1424,0	1884,2	819,0	1027,9	1120,3	1151,8	1080,3	1140,4
6	RL	1962,1	2207,4	827,5	627,0	861,1	959,3	830,0	844,5

Apêndice F- Pressão venosa central (PVC, mmHg) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

PRESSÃO VENOSA CENTRAL									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	0	1	1	0	0	1	0	0
2	Controle	0	2	2	2	2	3	2	1
3	Controle	0	0	0	2	0	1	4	0
4	Controle	0	-1	0	0	-1	0	1	0
5	Controle	0	0	0	1	0	1	0	0
6	Controle	2	3	3	3	3	2	2	2
1	HES	0	-2	0	0	-1	-1	1	-1
2	HES	1	-1	3	1	1	0	0	1
3	HES	0	0	0	1	-2	-2	-2	-1
4	HES	0	-3	2	1	0	-1	0	-1
5	HES	1	-1	2	2	1	0	0	0
6	HES	0	0	1	0	-1	-1	-2	-2
1	RL	0	0	1	0	1	1	1	0
2	RL	3	2	5	3	3	3	5	2
3	RL	0	-2	3	0	-1	0	-1	-1
4	RL	1	-3	3	0	0	0	-1	-2
5	RL	2	1	5	2	2	1	1	1
6	RL	1	-5	0	0	0	0	-1	-1

Apêndice G-Volume diastólico final global (GEDVI, mL/m²) apresentado em média individual para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

VOLUME DIASTOLICO FINAL GLOBAL									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	830,6	788,3	701,4	711,9	717,8	622,6	623,8	599,1
2	Controle	769,7	714,4	596,6	737,5	699,7	666,6	647,2	718,1
3	Controle	519,3	500,8	469,6	504,7	504,7	508,6	468,6	489,1
4	Controle	475,8	479,3	459,7	472,4	485,1	460,8	463,1	450,4
5	Controle	679,8	632,3	597,2	613,7	536,2	565,1	536,2	543,4
6	Controle	548,4	536,6	574,2	571,5	576,9	555,2	528,0	507,7
1	HES	650,8	527,5	641,4	602,7	556,9	590,9	527,5	531,0
2	HES	660,1	574,5	718,1	637,1	677,6	636,2	611,3	645,4
3	HES	573,0	404,2	552,5	553,5	494,0	459,8	473,5	444,2
4	HES	650,2	436,6	615,6	557,8	512,8	533,6	492,0	464,3
5	HES	1008,4	643,7	855,5	834,8	825,5	786,2	800,7	700,5
6	HES	849,7	720,8	1056,0	819,9	924,4	752,0	752,0	752,0
1	RL	587,4	533,4	641,4	601,5	561,6	555,7	583,9	559,2
2	RL	639,9	548,7	698,8	665,6	683,1	618,7	637,1	583,7
3	RL	591,6	457,8	668,7	557,4	526,2	557,4	551,6	540,8
4	RL	656,0	451,6	675,6	589,0	612,1	574,0	622,5	557,8
5	RL	703,6	582,7	780,0	685,0	632,3	620,9	587,9	575,5
6	RL	832,1	700,4	760,1	781,9	685,5	690,9	674,6	638,0

Apêndice H- Índice do volume sanguíneo intra-torácico (mL/m²) apresentado em média individual para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

ÍNDICE DO VOLUME SANGUINEO TOTAL INTRATORÁCICO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	1038,2	985,4	876,7	889,9	897,2	778,3	779,8	748,9
2	Controle	962,1	893,0	745,7	921,8	874,6	833,2	809,0	897,6
3	Controle	649,2	626,0	586,9	630,9	630,9	635,8	585,7	611,4
4	Controle	594,8	599,1	574,6	590,5	606,3	576,0	578,9	563,0
5	Controle	849,8	790,4	746,5	767,1	670,3	706,4	670,3	679,3
6	Controle	685,5	670,7	717,7	714,3	721,1	694,0	660,0	634,6
1	HES	813,5	659,4	801,8	753,3	696,1	738,7	659,4	663,8
2	HES	825,1	718,1	897,6	796,4	847,0	795,2	764,2	806,7
3	HES	716,3	505,2	690,7	691,9	617,5	574,7	591,8	555,2
4	HES	812,8	545,7	769,5	697,3	641,0	667,0	615,0	580,4
5	HES	1260,5	804,6	1069,3	1043,5	1031,9	982,8	1000,9	875,6
6	HES	1062,1	901,0	1320,1	1024,8	1155,5	940,0	940,0	940,0
1	RL	734,2	666,7	801,8	751,9	701,9	694,6	729,8	699,0
2	RL	799,8	685,9	873,5	832,1	853,9	773,4	796,4	729,6
3	RL	739,5	572,3	835,9	696,8	657,7	696,8	689,4	676,0
4	RL	820,0	564,5	844,6	736,3	765,2	717,5	778,1	697,3
5	RL	879,5	728,4	975,0	856,2	790,4	776,2	734,8	719,3
6	RL	1040,1	875,5	950,2	977,3	856,8	863,6	843,3	797,5

Apêndice I- Índice de água extravascular pulmonar (EVLWI, mL/kg) apresentado em média individual para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

AGUA EXTRAVASCULAR PULMONAR									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	21,3	18,9	17,4	17,6	17,8	15,9	13,6	12,7
2	Controle	14,9	17,1	15,9	14,8	13,5	14,5	14,1	15,2
3	Controle	12,1	12,6	11,7	11	9,9	9,7	9,4	8
4	Controle	10	9	9,2	9	8,8	9	8,6	8,7
5	Controle	9,9	8,9	9,1	8,9	9,1	8,8	8,5	8,6
6	Controle	11	11,8	11,8	12	12,5	11	11,6	10,2
1	HES	14,3	12,9	12,6	13,1	12,7	13,6	12,9	12,7
2	HES	11,6	10,9	12	9,3	10,5	9,3	9,1	8,5
3	HES	12,3	9,3	9,9	11,4	8,3	9	8,9	8,1
4	HES	12,7	12,6	11,2	11,4	11,4	10,9	11	10,8
5	HES	15,6	7,5	7,8	8,6	8,6	9,6	9,4	8
6	HES	13	19,8	14,5	9,6	8,2	10	10,4	10,2
1	RL	11,1	11,6	11,7	11,5	11,2	11,7	10,5	11,7
2	RL	9,8	8,3	9,1	9	9,3	8,4	8,5	8,7
3	RL	10,9	10,8	9,4	9	9,4	8,4	9,3	9,4
4	RL	14,8	14,9	14,2	14,8	15,8	14,4	15,6	16,3
5	RL	13,8	14	13,6	12,2	12,2	12,8	12,6	12,4
6	RL	16,7	17,5	13,5	13,2	12,4	12,7	12,3	12

Apêndice J- Potencial hidrogeniônico (pH) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

POTENCIAL HIDROGENIÔNICO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	7,42	7,41	7,40	7,40	7,38	7,40	7,41	7,39
2	Controle	7,41	7,40	7,39	7,38	7,37	7,31	7,33	7,33
3	Controle	7,39	7,40	7,39	7,40	7,38	7,41	7,40	7,38
4	Controle	7,42	7,41	7,40	7,41	7,41	7,41	7,42	7,38
5	Controle	7,35	7,38	7,38	7,38	7,39	7,40	7,38	7,37
6	Controle	7,39	7,39	7,40	7,41	7,39	7,38	7,39	7,37
1	HES	7,45	7,45	7,41	7,44	7,42	7,42	7,41	7,39
2	HES	7,38	7,33	7,37	7,39	7,37	7,37	7,38	7,37
3	HES	7,42	7,42	7,40	7,41	7,41	7,40	7,37	7,37
4	HES	7,40	7,37	7,38	7,38	7,39	7,34	7,35	7,31
5	HES	7,38	7,35	7,38	7,41	7,42	7,34	7,34	7,33
6	HES	7,43	7,40	7,34	7,35	7,36	7,40	7,43	7,38
1	RL	7,40	7,36	7,38	7,39	7,36	7,39	7,37	7,34
2	RL	7,38	7,37	7,38	7,40	7,38	7,38	7,36	7,37
3	RL	7,42	7,40	7,41	7,46	7,43	7,40	7,48	7,42
4	RL	7,39	7,38	7,42	7,40	7,40	7,40	7,39	7,36
5	RL	7,40	7,37	7,42	7,41	7,42	7,40	7,38	7,40
6	RL	7,41	7,38	7,37	7,43	7,38	7,38	7,37	7,38

Apêndice K- Pressão parcial do dióxido de carbono no sangue arterial (PaCO₂, mmHg) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

PRESSÃO PARCIAL DE DIÓXIDO DE CARBÔNICO NO SANGUE ARTERIAL									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	41	42	43	42	45	41	40	43
2	Controle	41	42	43	43	43	46	42	39
3	Controle	43	41	44	43	44	42	41	45
4	Controle	43	46	47	44	43	43	43	39
5	Controle	47	42	45	45	42	42	45	43
6	Controle	41	41	41	42	44	46	46	50
1	HES	37	40	40	38	37	39	41	43
2	HES	41	45	42	40	40	42	41	40
3	HES	42	42	43	42	41	41	44	43
4	HES	41	44	44	44	46	48	47	46
5	HES	44	45	42	40	39	47	47	49
6	HES	42	39	45	47	48	40	38	39
1	RL	39	42	41	41	42	39	41	44
2	RL	42	42	43	42	42	43	45	44
3	RL	42	42	42	37	39	41	34	40
4	RL	44	43	39	42	43	44	41	47
5	RL	41	42	39	39	39	42	43	39
6	RL	39	41	43	38	41	43	46	45

Apêndice L- Pressão parcial de oxigênio no sangue arterial (PaO₂, mmHg) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

PRESSAO PARCIAL DE OXIGÊNIO NO SANGUE ARTERIAL									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	241	255	270	185	190	207	210	196
2	Controle	184	201	185	166	204	194	202	183
3	Controle	205	212	228	213	210	210	204	182
4	Controle	210	201	195	190	209	203	217	197
5	Controle	169	208	195	190	174	171	184	172
6	Controle	194	198	202	200	193	135	199	169
1	HES	213	203	199	204	216	205	192	197
2	HES	187	218	205	207	199	203	208	189
3	HES	182	210	209	197	176	205	207	187
4	HES	195	195	182	184	185	182	181	154
5	HES	178	161	215	226	221	194	194	175
6	HES	207	183	191	202	195	212	207	209
1	RL	215	219	207	207	200	226	226	193
2	RL	204	228	197	187	182	196	183	184
3	RL	208	194	213	223	192	183	190	181
4	RL	188	175	224	225	205	186	182	203
5	RL	190	182	193	197	198	186	179	201
6	RL	208	212	206	227	196	198	191	180

Apêndice M- Relação da pressão parcial de oxigênio no sangue arterial/fração inspirada de oxigênio ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, mmHg) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

Animal	Tratamento	RELAÇÃO $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$							
		Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	669	671	693	501	487	518	539	478
2	Controle	498	490	501	474	510	485	470	480
3	Controle	524	531	542	533	524	525	522	465
4	Controle	539	515	513	529	535	534	530	493
5	Controle	445	495	476	488	482	462	472	451
6	Controle	511	549	560	646	569	354	553	424
1	HES	545	508	509	511	528	513	492	506
2	HES	468	484	500	505	485	495	496	484
3	HES	454	500	487	493	488	540	493	479
4	HES	488	464	454	459	463	444	442	366
5	HES	445	435	499	513	502	524	461	449
6	HES	505	468	490	491	488	517	505	487
1	RL	537	522	504	531	512	564	514	495
2	RL	499	506	504	478	467	467	426	449
3	RL	496	440	507	485	492	469	474	463
4	RL	494	473	510	511	487	490	466	473
5	RL	488	478	495	493	484	491	471	478
6	RL	547	531	516	527	478	470	454	429

Apêndice N- Sódio (Na^+ , mEq/L) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

SÓDIO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	139	139	139	140	139	138	139	139
2	Controle	139	137	136	144	140	136	141	140
3	Controle	142	140	141	140	144	140	142	139
4	Controle	141	138	137	139	138	139	143	144
5	Controle	140	143	140	142	142	141	139	141
6	Controle	144	143	143	144	142	141	141	141
1	HES	143	138	142	142	141	143	140	142
2	HES	139	142	143	142	143	142	145	142
3	HES	140	139	141	140	142	140	142	141
4	HES	143	141	145	143	144	143	141	141
5	HES	140	142	140	142	141	140	140	139
6	HES	137	138	141	138	139	139	138	140
1	RL	139	138	139	138	139	140	140	139
2	RL	141	140	140	138	141	140	139	139
3	RL	140	141	143	141	141	143	142	140
4	RL	142	137	139	138	137	138	143	137
5	RL	141	140	141	138	139	139	139	140
6	RL	142	141	143	142	143	140	142	140

Apêndice O- Potássio (K^+ , mEq/L) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

POTASSIO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	3,73	3,63	3,7	3,53	3,77	3,65	3,4	3,58
2	Controle	3,73	3,74	3,8	3,92	3,89	4,47	3,74	3,58
3	Controle	3,76	3,82	4,07	4,07	3,94	4,1	3,96	4,22
4	Controle	3,92	4,38	4,51	4,69	4,94	4,55	4,4	3,62
5	Controle	3,65	3,43	3,8	3,75	3,82	3,79	3,98	3,62
6	Controle	3,55	3,43	3,52	3,63	3,89	3,89	3,94	3,94
1	HES	3,19	3,19	3,24	3,34	3,18	3,21	3,35	3,22
2	HES	3,61	3,58	3,32	3,82	3,68	3,63	3,48	3,75
3	HES	4,01	4,16	3,95	3,97	3,74	3,71	3,7	3,55
4	HES	3,53	3,68	4,08	4,47	4,38	4,21	4,29	3,93
5	HES	3,84	3,58	3,67	3,87	3,74	3,96	3,86	3,86
6	HES	3,86	3,73	3,52	4,05	3,88	3,83	3,76	3,47
1	RL	3,79	3,78	3,72	3,78	3,33	3,38	3,68	3,66
2	RL	3,59	3,73	4,01	3,94	3,69	3,86	3,8	3,72
3	RL	3,75	3,68	3,4	3,41	3,31	3,19	3,23	3,28
4	RL	4,03	4,2	3,97	3,92	3,88	3,75	3,38	3,77
5	RL	3,36	3,58	3,52	3,69	3,54	3,54	3,54	3,35
6	RL	3,69	3,72	3,53	3,43	3,16	3,46	3,22	3,46

Apêndice P- Cloreto (Cl^- , mEq/L) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

CLORETO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	123	124	124	124	123	124	124	123
2	Controle	121	122	122	117	112	107	110	114
3	Controle	122	123	123	124	123	122	123	120
4	Controle	122	120	122	122	121	123	124	127
5	Controle	124	125	126	123	125	122	123	124
6	Controle	125	127	125	126	125	124	124	126
1	HES	120	124	125	124	124	125	123	125
2	HES	127	126	129	128	127	126	128	126
3	HES	122	122	125	125	125	126	124	125
4	HES	132	125	126	127	129	127	129	127
5	HES	124	126	127	126	130	125	125	125
6	HES	124	123	126	125	126	124	125	124
1	RL	126	127	125	127	125	127	126	125
2	RL	124	124	123	125	124	124	123	124
3	RL	125	122	123	122	122	123	124	122
4	RL	122	123	124	122	124	124	123	121
5	RL	124	124	126	124	123	125	123	123
6	RL	126	126	125	124	123	123	127	123

Apêndice Q- Excesso de base (BE_{ecf} , mEq/L) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

EXCESSO DE BASE									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	1,5	1,1	1,2	0,7	0,9	0,3	0,1	0,3
2	Controle	0,6	0,3	0	0	-1,4	-3,6	-4,2	-6,2
3	Controle	0,1	0	1	1	-0,1	1,1	-0,4	1
4	Controle	2,8	3,7	3,4	2,4	2,6	2,3	2,2	-2,5
5	Controle	-0,4	-0,7	1,3	0,7	0,4	0,2	0,8	-0,9
6	Controle	-0,9	-0,5	-0,3	1	0,9	1,3	1,7	2,4
1	HES	1,4	3,4	0,3	0,8	-1,5	0	0,3	0,5
2	HES	-1,3	-2,6	-1,8	-1,2	-2,7	-1,7	-1,7	-2,4
3	HES	1,7	1,6	1	1,1	0,5	0,1	-0,8	-1
4	HES	0	-0,8	-0,2	-0,2	2,1	-0,3	-0,3	-3,4
5	HES	0,2	-1,7	-0,6	0,2	-0,2	-1	-1	-0,8
6	HES	2,3	0	-1,8	-0,1	0,7	-1,1	-0,1	-2,5
1	RL	-1,4	-1,8	-1,5	-1,1	-2,4	-2,4	-1,7	-2,2
2	RL	-1	-1,4	-0,3	0,5	-0,5	-0,1	-0,7	-0,4
3	RL	2,2	0,3	1,5	2,3	1	0,6	1,4	1,2
4	RL	1,2	-0,2	0,1	0,9	1	1,4	-1,2	0,7
5	RL	0	-1,3	0,6	-0,4	-0,2	0,6	-0,2	-1,3
6	RL	-0,7	-2	-0,5	0,3	-1,3	-0,3	0,7	0,7

Apêndice R- Hematócrito, (Ht, %) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

HEMATÓCRITO									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	39	38	37	38	38	38	36	38
2	Controle	44	36	38	40	42	40	40	40
3	Controle	48	48	48	48	45	40	41	42
4	Controle	43	45	41	43	43	43	41	41
5	Controle	42	38	38	37	38	38	41	38
6	Controle	42	42	42	40	40	42	42	42
1	HES	38	40	34	33	33	35	38	38
2	HES	40	43	27	32	34	34	34	37
3	HES	42	36	28	30	30	34	32	35
4	HES	43	47	30	34	35	36	42	43
5	HES	40	40	29	30	32	31	36	35
6	HES	42	42	28	30	31	35	36	36
1	RL	38	39	30	32	34	36	34	36
2	RL	40	40	28	30	32	34	36	36
3	RL	45	47	24	29	30	36	36	35
4	RL	45	47	24	32	34	34	32	37
5	RL	40	42	28	28	32	34	36	36
6	RL	45	46	27	38	38	38	38	38

Apêndice S- Proteína plasmática total (PPT, mg/dL) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e durante 4 horas após HNA.

PROTEINA PLASMÁTICA TOTAL									
Animal	Tratamento	Basal	RS	RV	0,5	1	2	3	4
1	Controle	5,8	5,8	5,8	6	6	5,6	5,6	5,6
2	Controle	5,4	5,6	5,4	5,6	5,6	5,6	5,6	5,4
3	Controle	6	6	5,4	5,8	5,6	5,2	5,6	5,4
4	Controle	5,8	5,8	5,6	5,8	5,6	5,6	5	5
5	Controle	5,9	5,2	5,7	5,4	6	5,6	5,8	5,2
6	Controle	5,2	5,2	5	5,2	5,2	5	5	5
1	HES	6,4	6,4	6	5,8	5,8	6,2	6,2	6,2
2	HES	7,2	6,8	5,6	5,6	5,6	5,6	5,8	5,8
3	HES	5,6	5,8	3,6	4	3,8	4	4	4,2
4	HES	6,6	6,6	5,4	5,4	5,4	5,6	5,6	5,8
5	HES	7,2	7	6,2	5,8	5,8	6	6,4	6
6	HES	6,8	6,6	5,4	5,4	5,4	5,8	5,8	5,8
1	RL	7	6,8	5	5,4	5,8	5,8	5,8	5,8
2	RL	5,4	5,2	3,2	4	3,8	4,2	4,2	4,2
3	RL	7,4	7	4	4,8	4,8	5,2	5	5,2
4	RL	6,4	6,2	3,6	4,4	5	5	5	5
5	RL	7,2	6,8	5,8	5	5,4	5,6	6	5,6
6	RL	6,8	6,4	3,8	4,8	5	5	4,8	5,2

Apêndice T- Hemoglobina (Hb, mmol/L) (Na⁺, mEq/L) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), imediatamente após a remoção do sangue em 30 min (RS), imediatamente após a reposição volêmica com TS ou RL em 30 min (RV) e 0,5, 2, 4 horas após HNA, e 24 horas após a HNA, em animais conscientes.

HEMOGLOBINA						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	14,0	15,4	14,2	12,7	14,6
2	Controle	12,6	11,8	11,9	13,4	11,2
3	Controle	12,2	12,9	11,5	12,7	15,4
4	Controle	16,6	15,3	15,6	17,4	16,3
5	Controle	13,5	13,4	13,7	13,6	12,5
6	Controle	15,9	14,3	15,1	14,7	13,9
1	HES	12,5	8,8	9,6	6,7	13,5
2	HES	15,1	11,5	12,9	14,4	14,0
3	HES	15,7	11,7	14,4	13,0	13,0
4	HES	16,3	10,4	12,9	14,9	14,7
5	HES	14,8	10,8	11,3	12,6	13,0
6	HES	16,0	10,6	11,8	14,7	16,9
1	RL	14,9	12,9	13,4	13,7	12,2
2	RL	13,0	8,9	10,7	10,9	14,1
3	RL	17,4	11,6	13,2	13,3	12,1
4	RL	15,2	10,9	12,3	12,7	14,0
5	RL	15,1	12,0	11,0	11,7	16,0
6	RL	16,6	14,3	13,7	12,8	8,9

Apêndice U- Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL, pg/mL) mensurada no plasma, apresentada como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 4 horas após HNA, 24 e 72 horas após a HNA, em animais conscientes.

NGAL - PLASMA					
Animal	Tratamento	Basal	4	24	72
1	Controle	3754,847	3670,481	4133,689	5084,962
2	Controle	14618,02	10122,87	14479,83	23967,66
3	Controle	3562,16	4276,64	5816,49	5848,78
4	Controle	13984,1	12978,8	15298,2	16007,4
5	Controle	7851,387	6785,852	8966,494	8049,137
6	Controle	4940,497	4955,982	7201,423	6794,851
1	HES	3750,467	3444,558	4416,583	4529,221
2	HES	28978,3	31849,7	32779,9	23900
3	HES	4112,16	3516,58	5173,51	5150,52
4	HES	15007,19	14537,09	36925,83	31186,51
5	HES	7516,823	6406,388	10681,51	14536,03
6	HES	10820,26	8744,824	11905,75	11700,97
1	RL	5652,525	4178,457	6094,95	5676,988
2	RL	10408,1	8928,505	9117,49	25549,94
3	RL	10193,8	11861,7	14024,5	13234,6
4	RL	17962,75	17320,63	19580,6	25289,03
5	RL	8338,038	6489,644	10382,11	10904,7
6	RL	8441,244	6550,836	13091,46	11192,45

Apêndice V- Lipocalina associada a gelatinase de neutrófilos (NGAL, pg/mL) mensurada na urina, apresentada como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 4 horas após HNA, 24 e 72 horas após a HNA, em animais conscientes.

NGAL - URINA					
Animal	Tratamento	Basal	4	24	72
1	Controle	319,645	1731,034	579,913	579,913
2	Controle	5083,856	2839,725	2645,583	11095,61
3	Controle	1829,03	1636,84	859,215	930,93
4	Controle	1039,67	955,438	769,504	1193,386
5	Controle	798,346	920,603	874,618	397,678
6	Controle	552,479	3524,041	5977,773	2193,319
1	HES	280,916	718,621	866,954	262,101
2	HES	17093	20827,2	4737,89	8526,91
3	HES	260,948	273,593	476,955	1392,34
4	HES	3087,302	1176,816	4318,719	450,805
5	HES	273,593	259,728	237,545	286,533
6	HES	290,23	1634,24	1413,581	1322,156
1	RL	248,637	304,152	570,716	1172,735
2	RL	4178,587	626,918	290,23	5746,83
3	RL	4586,37	1215,588	1822,93	9132,6
4	RL	1699,361	585,273	220,462	868,783
5	RL	302,245	73,353	206,12	137,698
6	RL	1552,199	4545,075	3331,582	975,019

Apêndice W- Relação NGAL/creatinina urina (pg/mL) mensurada no plasma, apresentada como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 4 horas após HNA, 24 e 72 horas após a HNA, em animais conscientes.

RELAÇÃO NGAL/CREATININA - URINA					
Animal	Tratamento	Basal	4	24	72
1	Controle	121,7	589,8	770,6	770,6
2	Controle	1442,2	772,7	2799,6	4483,1
3	Controle	782,5	651,5	872,3	570,2
4	Controle	641,8	525,0	709,2	461,2
5	Controle	435,1	249,0	631,5	267,3
6	Controle	254,0	1469,9	6068,8	1075,2
1	HES	341,5	324,1	459,9	246,1
2	HES	9128,4	16113,9	3844,1	4418,1
3	HES	87,4	128,1	418,4	389,2
4	HES	3642,8	822,9	6494,3	1079,8
5	HES	217,1	114,5	549,2	254,1
6	HES	203,3	702,9	1190,4	356,1
1	RL	411,0	241,4	1141,4	252,2
2	RL	1144,0	213,4	471,9	2720,4
3	RL	3264,3	650,9	4340,3	2440,2
4	RL	746,2	490,8	584,0	353,9
5	RL	143,4	23,1	260,1	131,8
6	RL	695,3	2631,0	5975,9	407,1

Apêndice X- Creatinina (mg/dL) mensurada no plasma, apresentada como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 4 horas após HNA, 24 e 72 horas após a HNA, em animais conscientes.

CREATININA- PLASMA					
Animal	Tratamento	Basal	4	24	72
1	Controle	0,67	0,62	0,65	0,62
2	Controle	0,75	0,77	0,68	0,73
3	Controle	0,64	0,67	0,67	0,6
4	Controle	0,91	0,92	0,75	0,78
5	Controle	0,92	0,89	0,75	1
6	Controle	0,7	0,77	0,68	0,8
1	HES	0,61	0,63	0,64	0,6
2	HES	0,62	0,7	0,64	0,77
3	HES	0,67	0,63	0,62	0,75
4	HES	0,79	0,85	0,69	0,8
5	HES	0,86	0,85	0,81	0,89
6	HES	0,66	0,62	0,61	0,64
1	RL	0,63	0,66	0,55	0,7
2	RL	0,79	0,81	0,7	0,8
3	RL	0,59	0,59	0,59	0,67
4	RL	0,82	0,77	0,71	0,9
5	RL	0,82	0,74	0,73	0,8
6	RL	0,64	0,65	0,64	0,74

Apêndice Y- Creatinina (mg/dL) mensurada na urina, apresentada como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 4 horas após HNA. E 24 e 72 horas após a HNA, em animais conscientes.

CREATININA- URINA					
Animal	Tratamento	Basal	4	24	72
1	Controle	262,75	293,5	75,25	75,25
2	Controle	352,5	367,5	94,5	247,5
3	Controle	233,75	251,25	98,5	163,25
4	Controle	162	182	108,5	258,75
5	Controle	183,5	369,75	138,5	148,75
6	Controle	217,5	239,75	98,5	204
1	HES	82,25	221,75	188,5	106,5
2	HES	187,25	129,25	123,25	193
3	HES	298,5	213,5	114	357,75
4	HES	84,75	143	66,5	41,75
5	HES	126	226,75	43,25	112,75
6	HES	142,75	232,5	118,75	371,25
1	RL	60,5	126	50	465
2	RL	365,25	293,75	61,5	211,25
3	RL	140,5	186,75	42	374,25
4	RL	227,75	119,25	37,75	245,5
5	RL	210,75	318	79,25	104,5
6	RL	223,25	172,75	55,75	239,5

Apêndice Z- Tempo de coagulação (CT, seg) pela via intrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

Animal	Tratamento	CT _{in-TEM}				
		Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	129	99	89	106	82
2	Controle	118	110	107	119	61
3	Controle	143	111	116	119	147
4	Controle	125	135	125	125	137
5	Controle	76	88	81	94	102
6	Controle	104	108	112	115	101
1	HES	84	101	51	104	121
2	HES	103	63	102	90	41
3	HES	116	84	109	117	120
4	HES	96	147	115	131	111
5	HES	121	107	92	138	134
6	HES	115	80	90	72	111
1	RL	95	98	94	89	90
2	RL	141	111	99	109	147
3	RL	112	30	106	119	152
4	RL	136	151	92	130	78
5	RL	138	130	122	103	134
6	RL	100	109	136	138	122

Apêndice AA- Tempo de formação do coágulo (CFT, seg) pela via intrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

Animal	Tratamento	CFT _{in-TEM}				
		Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	68	68	63	88	62
2	Controle	73	90	81	85	83
3	Controle	87	98	90	124	82
4	Controle	57	59	59	58	58
5	Controle	76	80	69	64	82
6	Controle	94	86	88	87	90
1	HES	79	80	88	90	71
2	HES	90	97	96	80	70
3	HES	112	141	120	132	102
4	HES	82	169	102	103	82
5	HES	82	109	111	109	67
6	HES	113	199	177	138	99
1	RL	80	109	127	88	72
2	RL	61	89	88	75	94
3	RL	78	123	131	91	77
4	RL	105	171	125	130	82
5	RL	62	82	101	102	67
6	RL	74	120	102	114	91

Apêndice BB- Ângulo α (°) pela via intrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA. E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

ÂNGULO α_{in-TEM}						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	79	76	78	75	77
2	Controle	76	76	73	76	73
3	Controle	77	71	73	71	74
4	Controle	78	78	78	78	79
5	Controle	74	74	77	77	84
6	Controle	73	74	74	74	72
1	HES	76	70	65	72	75
2	HES	79	72	75	75	71
3	HES	75	66	66	74	76
4	HES	70	72	67	76	74
5	HES	79	74	73	72	76
6	HES	76	69	71	68	72
1	RL	75	77	74	72	76
2	RL	75	72	73	74	76
3	RL	70	63	68	67	72
4	RL	74	70	70	75	73
5	RL	76	76	71	70	76
6	RL	70	60	64	68	70

Apêndice CC- Firmeza máxima do coágulo (MCF, mm) pela via intrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

MCF _{in-TEM}						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	63	64	63	58	69
2	Controle	58	57	59	57	63
3	Controle	57	56	58	54	61
4	Controle	64	67	66	67	68
5	Controle	62	61	62	64	63
6	Controle	57	61	59	60	62
1	HES	55	56	53	56	64
2	HES	60	58	54	59	57
3	HES	60	55	52	56	61
4	HES	55	50	52	46	65
5	HES	61	60	57	56	67
6	HES	60	55	58	58	58
1	RL	54	58	57	56	48
2	RL	56	56	54	60	64
3	RL	54	48	47	51	56
4	RL	61	48	52	53	66
5	RL	58	53	56	52	67
6	RL	50	48	49	53	58

Apêndice DD- Tempo de coagulação (TC, seg) pela via extrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

CT _{ex-TEM}						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	55	38	45	40	36
2	Controle	31	39	41	39	31
3	Controle	47	38	57	64	48
4	Controle	32	37	36	31	29
5	Controle	35	36	39	37	32
6	Controle	37	35	38	37	32
1	HES	37	51	49	36	42
2	HES	34	64	41	37	82
3	HES	46	73	45	52	47
4	HES	40	67	62	71	35
5	HES	32	43	43	65	44
6	HES	76	79	41	24	36
1	RL	43	49	41	49	39
2	RL	56	50	31	47	36
3	RL	57	32	58	81	46
4	RL	28	60	53	35	27
5	RL	37	38	68	48	44
6	RL	75	114	75	76	9

Apêndice EE- Tempo de formação do coágulo (CFT seg) pela via extrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

CFT _{ex-TEM}						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	78	88	73	90	76
2	Controle	107	103	97	105	90
3	Controle	99	99	86	89	85
4	Controle	85	79	78	71	84
5	Controle	97	99	88	89	102
6	Controle	109	105	111	110	103
1	HES	105	108	110	108	108
2	HES	86	96	97	87	79
3	HES	91	100	109	94	82
4	HES	103	155	139	120	90
5	HES	92	107	88	88	84
6	HES	90	128	123	124	103
1	RL	108	94	117	102	97
2	RL	84	98	113	87	86
3	RL	112	124	109	115	108
4	RL	103	115	102	114	96
5	RL	115	129	99	103	84
6	RL	115	211	168	157	129

Apêndice FF- Ângulo α ($^{\circ}$), pela via extrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA. E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

Ângulo $\alpha_{\text{ex-TEM}}$						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	74	72	75	72	75
2	Controle	69	69	71	69	72
3	Controle	70	70	73	72	73
4	Controle	73	74	74	76	74
5	Controle	71	70	72	72	71
6	Controle	68	69	68	68	69
1	HES	74	72	75	72	75
2	HES	69	69	71	69	72
3	HES	70	70	73	72	73
4	HES	73	74	74	76	74
5	HES	71	70	72	72	71
6	HES	68	69	68	68	69
1	RL	68	71	67	70	71
2	RL	73	70	67	72	73
3	RL	68	66	68	68	69
4	RL	69	68	70	67	71
5	RL	67	65	70	70	74
6	RL	74	64	61	60	70

Apêndice GG- Firmeza máxima do coágulo (FMC, mm) pela via extrínseca, apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

MCF_{ex-TEM}						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	64	62	64	61	69
2	Controle	61	60	61	60	64
3	Controle	61	61	58	60	65
4	Controle	67	69	68	68	71
5	Controle	62	63	63	65	66
6	Controle	57	61	56	59	62
1	HES	59	56	56	58	60
2	HES	63	53	59	61	58
3	HES	62	54	57	60	66
4	HES	57	52	52	50	66
5	HES	66	61	61	57	70
6	HES	58	52	55	59	63
1	RL	58	58	58	56	63
2	RL	61	56	58	60	64
3	RL	55	50	54	49	63
4	RL	60	51	52	56	63
5	RL	63	56	57	61	70
6	RL	50	44	43	47	62

Apêndice HH- Tempo de protrombina (TP, seg), apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

TEMPO DE PROTROMBINA						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	14	16	14	14	14
2	Controle	14	14	18	15	14
3	Controle	16	14	19	19	14
4	Controle	14	14	12	14	12
5	Controle	14	17	17	14	12
6	Controle	15	16	19	13	14
1	HES	14	12	15	14	14
2	HES	14	14	16	14	14
3	HES	16	14	16	14	12
4	HES	15	15	15	16	11
5	HES	12	12	14	14	12
6	HES	14	13	17	14	14
1	RL	14	14	14	14	14
2	RL	12	18	14	14	14
3	RL	16	16	17	16	14
4	RL	14	14	14	14	12
5	RL	14	16	16	14	14
6	RL	14	16	15	16	11

Apêndice II- Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA, seg), apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

TEMPO DE TROMBOPLASTINA ARCIAL ATIVADA						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	71	72	63	65	87
2	Controle	84	67	68	72	64
3	Controle	67	66	92	68	84
4	Controle	64	74	76	82	91
5	Controle	64	68	61	65	68
6	Controle	81	91	91	87	85
1	HES	71	114	79	77	62
2	HES	54	66	90	79	78
3	HES	87	72	80	84	80
4	HES	80	124	116	115	86
5	HES	84	85	92	83	89
6	HES	96	73	80	106	76
1	RL	65	61	70	75	89
2	RL	72	103	93	74	86
3	RL	72	84	70	83	84
4	RL	70	98	96	87	78
5	RL	70	65	64	79	86
6	RL	98	140	98	97	96

Apêndice JJ- Contagem de plaquetas (células/ μ L), apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

CONTAGEM DE PLAQUETAS						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	310575	429250	328250	310575	391375
2	Controle	255025	232300	262600	242400	297950
3	Controle	358550	348450	371175	330775	333300
4	Controle	376225	361075	345925	356025	300475
5	Controle	353500	320675	320675	285325	275225
6	Controle	338350	386325	330775	373700	282800
1	HES	287850	222200	277750	292900	270175
2	HES	315625	270175	338350	333300	282800
3	HES	247450	232300	222200	267650	265125
4	HES	300475	186850	265125	287850	237350
5	HES	373700	247450	371175	343400	277000
6	HES	287850	234825	270175	237350	272700
1	RL	282800	265125	303000	252500	280275
2	RL	292900	184325	285325	242400	280275
3	RL	388850	239875	204525	313100	202000
4	RL	368650	224725	275225	277750	229775
5	RL	358550	224725	330775	300475	252500
6	RL	244925	136350	171700	126250	204525

Apêndice KK- Tempo de sangramento de mucosa oral (TSMO, seg) apresentado como valores individuais para cada momento. Tratamento controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch). Registradas durante a anestesia: momentos antes da HNA (BL), 0,5, 2, 4 horas após HNA.E 24 horas após a HNA em animais conscientes.

TEMPO DE SANGRAMENTO DE MUSOSA ORAL						
Animal	Tratamento	Basal	0,5	2	4	24
1	Controle	52	54	78	73	66
2	Controle	43	47	45	47	138
3	Controle	64	83	50	45	150
4	Controle	58	80	57	51	71
5	Controle	89	59	42	51	55
6	Controle	58	56	68	67	100
1	HES	46	69	66	33	31
2	HES	48	81	69	45	140
3	HES	47	107	74	41	83
4	HES	79	80	77	53	96
5	HES	32	63	146	92	48
6	HES	49	46	43	41	59
1	RL	100	51	60	46	51
2	RL	119	39	43	37	52
3	RL	92	76	76	75	123
4	RL	75	70	52	54	127
5	RL	60	47	40	60	41
6	RL	71	51	89	37	87

Apêndice LL- Volume de sangue retirado (mL/kg) para realizar a HNA.

VOLUME DE SANGUE RETIRADO PARA HNA		
Animal	Tratamento	Volume
1	HES	17,5
2	HES	19,5
3	HES	24,2
4	HES	26,9
5	HES	20,6
6	HES	26,9
1	RL	17,1
2	RL	19,7
3	RL	29,4
4	RL	30,7
5	RL	20,6
6	RL	32,5

Apêndice MM- Tempo de extubação (min) apresentado como valores individuais para cada tratamento: controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch).

TEMPO DE EXTUBAÇÃO		
Animal	Tratamento	Tempo
1	Controle	18
2	Controle	28
3	Controle	4
4	Controle	9
5	Controle	11
6	Controle	9
1	HES	10
2	HES	18
3	HES	15
4	HES	11
5	HES	2
6	HES	19
1	RL	11
2	RL	27
3	RL	21
4	RL	5
5	RL	6
6	RL	29

Apêndice NN- Tempo de posição quadrupedal (min) apresentado como valores individuais para cada tratamento: controle (sem HNA), RL (HNA com Ringer com Lactato) e TS (HNA com Tetrastarch).

TEMPO DE POSIÇÃO QUADRUPEDAL		
Animal	Tratamento	Tempo
1	Controle	38
2	Controle	89
3	Controle	64
4	Controle	27
5	Controle	26
6	Controle	30
1	HES	27
2	HES	40
3	HES	27
4	HES	23
5	HES	29
6	HES	62
1	RL	22
2	RL	136
3	RL	53
4	RL	22
5	RL	15
6	RL	98

GLOSSÁRIO

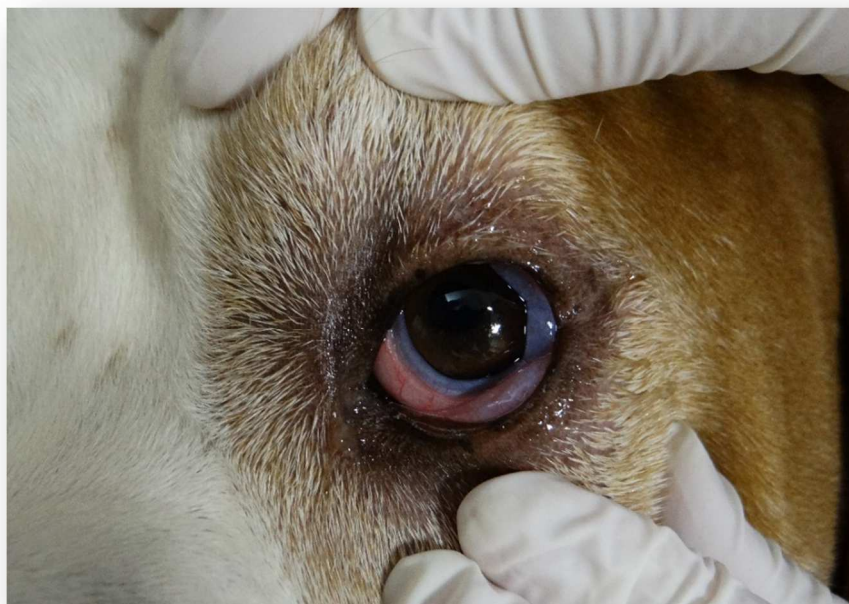
Definição baseada na “*U.S. Anti-Doping Agency*”, USADA

Transfusão de sangue autóloga: a coleta e a transfusão são feitas no mesmo indivíduo.

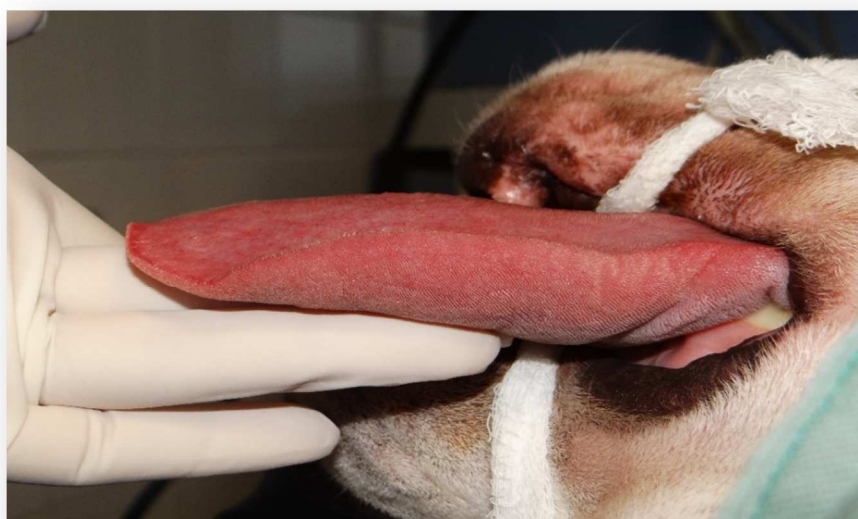
Transfusão de sangue alogênica: também denominada de transfusão homóloga, consiste na coleta de sangue é feita em indivíduo doador e a transfusão é realizada em um outro indivíduo receptor compatível.

Transfusão de sangue heteróloga: a coleta e a transfusão são realizadas em indivíduos de espécies diferentes.

ANEXOS



Anexo I. Animal tratado com Ringer Lactato apresentou edema de conjuntiva. Fonte: elaborado pelo autor.



Anexo II. Animal tratado com Ringer Lactato apresentou edema de língua. Fonte: elaborado pelo autor.