

Fábio dos Santos Cosso Martins

Efeitos da ressuscitação hídrica após hemorragia aguda na histologia do rim de ratos anestesiados com sevoflurano

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp, para obtenção do título de Mestre.

Prof^a Titular Yara Marcondes Machado Castiglia
Orientadora

Botucatu – SP
2011

Aos meus Pais

Sou eternamente grato aos meus pais que depois de tantas dificuldades financeiras conseguiram criar e educar de forma honesta e digna a mim e a meu irmão.

Obrigado, minha Mãe, por tantas noites acordadas velando meu sono, acalantando-me, ajudando-me nos momentos mais difíceis, não me deixando nunca desamparado.

Obrigado ao meu eterno Pai a quem hoje infelizmente não posso mais agradecer pessoalmente, somente em pensamento, pois o que resta é somente saudade.

À minha Família

Todo esse esforço só seria possível com o apoio incondicional da minha família, pela compreensão das noites mal dormidas, das preocupações, dos medos e dos desesperos.

Aos meus filhos, minha Bela princesa branca linda e pura, e meu príncipe branco meigo tão pequeno e dependente.

A minha esposa, o grande e único amor da minha vida, que se dedica incansavelmente à família e me impulsiona a viver e acreditar no verdadeiro amor, depois de tantos desencontros o eterno encontro.

À minha Orientadora

*"O professor disserta sobre ponto difícil do programa.
Um aluno dorme,
cansado das canseiras desta vida.
O professor vai sacudi-lo?
Vai repreendê-lo?
Não.
O professor baixa a voz,
com medo de acordá-lo."*

Carlos Drummond de Andrade

*O sucesso é um professor perverso. Ele seduz as pessoas
inteligentes e as faz pensar que jamais vão cair.*

Bill Gates

*Toda essa obra só seria possível pelo seu conhecimento inesgotável no assunto, sua
dedicação plena ao bom andamento do trabalho.*

*Muito Obrigado pela paciência e minhas sinceras desculpas pelas dificuldades pessoais
apresentadas ao longo da dissertação.*

O Valor da Educadora

Ser Professor...

*Ser transmissor de verdades,
de inverdades...*

*Ser cultivador de amor,
de amizades.*

*Ser convicto de acertos,
de erros.*

*Ser construtor de seres,
de vidas.*

Ser edificador.

*Movido por impulsos, por
razão, por emoção.*

*De sentimentos profundos,
que carrega no peito o
orgulho de educar.*

*Que armazena o conhecer,
que guarda no coração, o
pesar
de valores essenciais
para a felicidade dos “seus”.*

Ser conquistador de almas.

*Ser lutador,
que enfrenta agruras,
mas prossegue, vai adiante
realizando sonhos,
buscando se auto-realizar,
atingir sua plenitude
humana.*

*Possuidor de
potencialidades.*

*Da fraqueza, sempre surge a
força
fazendo-o guerreiro.*

*Ser de incalculável
sabedoria,
pois “o valor da sabedoria é
melhor que o de rubis”.*

É...

*esse é o valor de ser
educador...*

Desconhecido

Agradecimentos

A finalização desta dissertação só foi possível graças às valiosas contribuições de várias pessoas, sem as quais a tarefa teria sido mais difícil e, certamente, o trabalho, menos completo. Gostaria de agradecer a todas elas por sua dedicação e compromisso e, em particular,

à Prof^a Dr^a Marcia C. Vaz, grande incentivadora na minha graduação;

ao Prof Dr Viciany Erique Fabris, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, pelos laudos da análise histológica;

à Prof^a Dr^a Lúcia Raquel de Carvalho, do Instituto de Biociências, UNESP, pelo tratamento estatístico aos resultados desta pesquisa;

à Residente do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Dr^a Mariana Cecília Ramirez Zamorano, pelo apoio no estudo experimental;

à Sr^a Joana Jacirene Costa Teixeira, pelo trabalho gráfico e de diagramação e apoio na secretaria do Departamento de Anestesiologia;

à Sr^a Sônia Maria Martins da Silva, pelo apoio na secretaria do Departamento de Anestesiologia;

ao Sr André Renato Passaroni, pelo auxílio no serviço de computação;

à Sr^a Raquel Romão da Silva Lemos, pelo apoio na elaboração das tabelas da pesquisa;

à Sr^{ta} Neli Aparecida Pavan, pelo auxílio durante o desenvolvimento do meu curso de Pós-Graduação;

aos Srs Cristiano Correa de Oliveira e Jurandir Antonio, pelo auxílio com os animais no laboratório experimental;

à FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo Auxílio à Pesquisa, Processo número 2009/51983-9;

à CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de Bolsa de Mestrado.

Lista de Figuras

- Figura 1** Análise histológica de rins de ratos submetidos à hemorragia de 30% da volemia e que receberam solução de Ringer sem lactato (esquerda), grupo G2, e solução de hidroxietilamido 130/0,4 (direita), grupo G3. À esquerda, degeneração tubular e à direita, dilatação tubular. Coloração: hematoxilina/eosina - HE..... 31

Lista de Tabelas

Tabela 1	Média $\pm$ desvio padrão (DP) referentes ao peso (g) dos ratos segundo grupo.....	25
Tabela 2	Média $\pm$ desvio padrão referentes ao hematócrito (%) segundo momento e grupo.....	26
Tabela 3	Média $\pm$ desvio padrão referentes à temperatura retal (°C) segundo momento e grupo.....	27
Tabela 4	Média $\pm$ desvio padrão referentes à pressão arterial média (mmHg) segundo momento e grupo.....	28
Tabela 5	Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram dilatação vascular (DV) dentro de cada grupo.....	29
Tabela 6	Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram congestão vascular (CV) dentro de cada grupo.....	29
Tabela 7	Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram dilatação tubular (DT) segundo escore e dentro de cada grupo.....	30
Tabela 8	Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram degeneração tubular (DGT) segundo escore e dentro de cada grupo...	30
Tabela 9	Distribuição de frequências dos rins dos ratos que apresentaram necrose tubular (NT) segundo escore e dentro de cada grupo.....	31
Tabela 10	Valores de temperatura (temp) (°C), pressão arterial média (PAM) (mmHg) e hematócrito (Htc) (%) dos animais dos grupos G1, G2, G3 e G4 nos momentos M1, M2 e M3.....	46
Tabela 11	Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 1: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT).....	47
Tabela 12	Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 2: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT).....	48
Tabela 13	Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 3: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT).....	49
Tabela 14	Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 4: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT).....	50

Sumário

1 Introdução.....	15
2 Objetivo.....	20
3 Material e Método.....	21
3.1 Atributos estudados.....	23
3.2 Momentos estudados.....	23
3.3 Análise histológica.....	24
3.4 Análise estatística.....	24
4 Resultados.....	25
4.1 Peso dos ratos.....	25
4.2 Hematócrito.....	26
4.3 Temperatura retal.....	27
4.4 Pressão arterial média.....	28
4.5 Histologia renal: dilatação vascular.....	29
4.6 Histologia renal: congestão vascular.....	29
4.7 Histologia renal: dilatação tubular.....	30
4.8 Histologia renal: degeneração tubular.....	30
4.9 Histologia renal: necrose tubular.....	31
5 Discussão.....	32
6 Conclusão.....	39
7 Referências.....	40
Anexos.....	46

Martins FCS. Efeitos da ressuscitação hídrica após hemorragia aguda na histologia de rins de ratos anestesiados com sevoflurano. Botucatu, 2011. 50p. Dissertação (Mestrado em Anestesiologia) – Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP - Univ. Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Resumo

Na prática clínica, muitas vezes observam-se situações de hemorragia aguda em pacientes submetidos a cirurgias que normalmente não apresentariam grandes perdas sangüíneas, fazendo com que a reposição dessa perda não seja imediata, tanto com solução cristalóide, como com colóide, ou mesmo com sangue. Quais as reais conseqüências para o rim trazidas por essa situação? O objetivo desta pesquisa foi avaliar a histologia do rim de rato normotérmico e anestesiado com sevoflurano, em situação de hemorragia aguda e reposição com solução de Ringer sem lactato e hidroxietilamido 130/0,4. Quatro grupos de ratos Wistar (n=10) anestesiados com sevoflurano, recebendo solução de Ringer sem lactato, 7 mL/kg/h, três dos quais foram submetidos à hemorragia de 30% da volemia (três etapas de retirada de 10% com 10 min de intervalo): G1 - ratos sem reposição do sangue retirado; G2 - reposição com solução de Ringer sem lactato, em proporção de reposição de 3:1 de sangue retirado; G3 - reposição com solução de hidroxietilamido (HEA) 130/0,4, em proporção de 1:1 de sangue retirado; G4 - (*sham*) - ratos que não foram submetidos à hemorragia. Estudaram-se a pressão arterial média, a temperatura retal e o hematócrito, nos seguintes momentos: M1 – momento que correspondeu ao tempo em que ocorreu a 1^a sangria; M2 - 40 min após a 1^a sangria e 20 min após a 3^a sangria; M3 – 50 min após a 3^a sangria, quando os ratos foram sacrificados e foi realizada nefrectomia bilateral para análise histológica dos rins. A temperatura manteve-se estável durante todo o experimento em todos os grupos. Quanto ao hematócrito, em M1 e M2 os grupos foram iguais e, em M3, (G1=G4)>G3>G2. Quanto à pressão arterial média, em M1 os grupos foram iguais, em M2, G4 > (G1 = G2 = G3) e, em M3, (G3 = G4) > G2 > G1. Na análise histológica, apenas um rim de G2 apresentou dilatação e congestão vasculares, sem significância estatística; 19 rins de G3 e 4 de G4 não apresentaram dilatação tubular (DT), enquanto que um rim de G3 e 5 de G2, DT de leve intensidade, e 5 e 6 rins de G4, respectivamente, DT de intensidade moderada e intensa; o grupo G4 apresentou maior

percentual de rins sem degeneração tubular (DGT), e o grupo G3, nenhum rim sem DGT. Nenhum grupo apresentou necrose tubular. Assim, a hidratação basal empregada foi suficiente para atenuar as lesões que poderiam ocorrer com o choque hemorrágico e, do ponto de vista hemodinâmico, a solução de HEA mostrou-se superior à solução de Ringer em qualquer volume administrado. Em ratos anestesiados com sevoflurano e que sofreram hemorragia de 30% da volemia, tendo sido ressuscitados com solução de Ringer sem lactato ou com solução de HEA 130/0,4, os rins não apresentaram necrose tubular, mas mostraram degeneração tubular com ambas as soluções.

Palavras-chave: Hemorragia. Ressuscitação. Rins. Análise histológica. Ratos.

Martins FCS. Effects of fluid resuscitation after acute hemorrhage on the histology of kidneys in rats anesthetized with sevoflurane. Botucatu, 2011. 50p. Botucatu Medical School, UNESP - Univ. Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Abstract

In clinical practice, situations of acute hemorrhage are many times observed in patients submitted to surgeries that would normally not present great blood loss, and the replacement for such loss is not immediate, even when using crystalloid solutions, such as colloid, or blood. What are the real consequences to the kidney resulting from this situation? This study aimed at evaluating the histology of the kidney in normothermic rats anesthetized with sevoflurane, in a situation of acute hemorrhage and replacement with Ringer solution without lactate and hydroxyethylamide 130/0.4. Four groups of Wistar rats (n=10) anesthetized with sevoflurane and receiving Ringer solution without lactate, 7 mL/kg/h, were used. Three of these were submitted to hemorrhage of 30% of volemia (three phases for removal of 10% with a 10-min interval): G1 – rats without replacement of the removed blood; G2 – replacement with Ringer solution without lactate, following a replacement proportion of 3:1 of removed blood; G3 – replacement with hydroxyethylamide (HEA) 130/0.4, in a proportion of 1:1 of the removed blood; G4 - (*sham*) – rats that were not submitted to hemorrhage. Mean arterial pressure, rectal temperature and hematocrits were studied at the following moments: M1 - moment that corresponded to the time when the 1st bleeding occurred; M2 - 40 min after the 1st bleeding and 20 min after the 3rd bleeding; M3 - 50 min after the 3rd bleeding, when the rats were euthanized and bilateral nephrectomy was performed for histological analysis of the kidneys. Temperature was kept stable during the whole experiment in all groups. Concerning hematocrits, in M1 and M2, the groups were similar, and in M3, (G1 = G4) > G3 > G2. As regards mean arterial pressure, in M1, the groups were similar, in M2, G4 > (G1 = G2 = G3) and, in M3, (G3 = G4) > G2 > G1. In histological analysis, only one kidney in G2 showed vascular dilation and congestion, without statistical significance; 19 kidneys from G3 and 4 from G4 did not show tubular dilation (TD), whereas one kidney from G3 and 5 from G2 showed mild TD, and 5 and 6 kidneys from G4 respectively showed moderate and intense TD; G4 showed a higher percentage of kidneys without tubular degeneration (TDG), and G3 showed no kidneys without TDG.

None of the groups showed tubular necrosis. Hence, the basal hydration used was sufficient to attenuate the lesions that could occur from the hemorrhagic shock and, from the hemodynamic viewpoint, the HEA solution showed to be superior to the Ringer solution in any administered volume. In rats anesthetized with sevoflurane and that suffered hemorrhage of 30% of volemia and were resuscitated with Ringer solution without lactate or with HEA solution 130/0.4, the kidneys did not show tubular necrosis, but presented tubular degeneration with both solutions.

Key words: Hemorrhage. Resuscitation. Kidneys. Histological Analysis. Rats.

1 INTRODUÇÃO

Em 2004, Moore et al mostravam que a ressuscitação do paciente gravemente lesado que se apresentasse em choque havia melhorado muito segundo estudos clínicos e laboratoriais. Esperavam futuros benefícios provenientes de tecnologia que estava sendo trazida para uso clínico, especialmente as soluções hipertônicas de cloreto de sódio e dextran, agentes derivados de hemoglobina e que carregam (HBOC – *hemoglobin-based oxygen carriers*), monitoração precoce menos invasiva e informática médica. Tais tecnologias melhorariam o potencial de cuidados pré-hospitalares e hospitalares precoces para prevenir ou mais rapidamente reverter hipoxemia, hipovolemia e início do choque. Também muito importante seria a detecção de hipotermia, coagulopatia e acidose, com a intervenção necessária. Entretanto, como ainda hoje, as estratégias de ressuscitação do choque, envolvendo reposição da hemoglobina e de volume de fluido para obter novamente perfusão e oxigenação tecidual variam muito entre os centros que tratam o paciente de trauma. Uma das dificuldades é a escassez de evidências na literatura a favor e contra as estratégias intervencionistas - volume de fluido grande ou precoce? A prevenção da lesão é sempre preferível e possível, porém os cuidados precoces do paciente gravemente traumatizado e a modulação da resposta sistêmica inflamatória e exagerada devida à transfusão e às outras complicações de estratégias tradicionais ainda necessitavam da próxima geração de melhoramentos na ressuscitação do choque.

Por outro lado, novo paradigma surge com o conceito de “Lesão de Ressuscitação”. Revisão recente de literatura evidenciou que número considerável de estudos sugere que a lesão celular não é influenciada somente pelo choque, mas também pela estratégia de ressuscitação. Vários fluidos teriam efeito citotóxico e a reposição volêmica com a solução de Ringer lactato, por exemplo, pode desencadear respostas inflamatórias, excitação neutrofílica e indução de apoptose e necrose celular (Alam & Rhee, 2007). O D-isômero do lactato seria o responsável.

Cotton et al, 2006, publicaram artigo de revisão no qual evidenciam que estratégias de ressuscitação agressiva baseadas em cristalóides associam-se a complicações cardíacas e pulmonares, alterações de motilidade gastrointestinal, distúrbios de coagulação e disfunção imunológica e inflamatória. Também se observa

desequilíbrio da osmolaridade intra e extracelular. Distúrbios no volume celular rompem os numerosos mecanismos responsáveis por manter sob controle a cascata inflamatória. Por outro lado, estratégias que restringem a administração de fluidos associaram-se com menor frequência de desenvolvimento de síndrome da angústia respiratória aguda e menor tempo para o paciente se recuperar da mesma. Portanto, regimes de ressuscitação que provocam elevações precoces no fluxo e na pressão sanguíneas podem resultar em maiores hemorragias e mortalidade que aqueles regimes que permitem que o fluxo e a pressão aumentem de modo comparável e mais tardiamente na ressuscitação.

Hirshberg et al, 2006, elaboraram um modelo multicompartimental intravascular em paciente de 70 kg, no qual tempo de infusão para o tratamento de hemorragia seria fundamental. A administração de dois litros de cristalóides em bolus durante o início da hemorragia aumentou o tempo de sangramento em torno de 4 a 29%, incrementando a perda sanguínea, particularmente quando ela é lenta. Bolus similar, administrado após o aparecimento da hemostasia intrínseca, desencadeou novo sangramento.

Para o lado do rim, as alterações hemodinâmicas que podem ocorrer e que levem à vasoconstrição das arteríolas renais provocam lesões isquêmicas do parênquima renal por mecanismo de redistribuição de fluxo sanguíneo. Dentre os fatores reconhecidamente associados a este fenômeno, encontram-se a hipovolemia e as alterações hormonais decorrentes da resposta endócrino-metabólica ao estresse cirúrgico, como o aumento da secreção de hormônio antidiurético, das catecolaminas, da aldosterona e da angiotensina e a redução do fator natriurético atrial e do óxido nítrico (Lema et al, 1998).

Diego et al, 2007, relataram que ratos hipotérmicos anestesiados com sevoflurano e submetidos à hemorragia de 30% de sua volemia, por vinte minutos, apresentaram, já após trinta minutos, alterações renais significativas sob análise histológica, tais como dilatação e congestão vasculares, vacuolização tubular e, principalmente, dilatação tubular, além de necrose.

Abdurrahman et al, 2003, submeteram ratos, anestesiados com cetamina intramuscular, a hemorragia durante 10 minutos até que a pressão sistólica caísse para 40-35 mmHg. Os animais permaneceram em choque hemorrágico por 45 minutos, quando foram administradas, nos mesmos volumes retirados de sangue, várias soluções

diferentes (sangue total, solução de NaCl a 0,9%, solução de Ringer lactato, amido a 6% e 10%, dextran 40%), exceto no grupo controle o qual não foi ressuscitado. Neste grupo, após 45 minutos de hipotensão, a microscopia de luz e a microscopia eletrônica dos rins mostraram alargamento glomerular e do espaço de Bowman, sendo que os túbulos proximais se encontravam com extensa vacuolização e edema celular, mitocondrial e de lisossomas. Muitos desses túbulos evidenciaram distorção marcante, com edema de microvilosidades e extenso desaparecimento da borda em escova. Foi observado número aumentado de lisossomas e de vacúolos no citoplasma apical. Degeneração nos capilares glomerulares, picnose em podócito e espessamento da lâmina basal da cápsula glomerular foram observados. Numerosos capilares peritubulares apresentavam mitocôndrias livres e outros debris celulares. O endotélio desses capilares exibiu muita descontinuidade, o que, ocasionalmente, mostrou ocupação por plaquetas, as quais aderiram à membrana basal adjacente. As ressuscitações com sangue total e solução de dextran 40 foram as terapêuticas que mais preveniram os danos renais estruturais.

Até há pouco tempo quase não se tinha conhecimento sobre a resposta dos órgãos e tecidos frente a períodos de privação do fluxo sanguíneo (isquemia), ou sobre o que acontecia logo após esta situação ser revertida (reperfusão). Em 1986, Murry et al publicaram um estudo que se tornou referência para pesquisas sobre proteção de órgãos. Os pesquisadores descreveram que breves períodos de isquemia tornaram o miocárdio de cães resistente a período isquêmico subsequente e prolongado. Este fenômeno, desde então, ficou conhecido como “pré-condicionamento isquêmico” (PCI). Nessa pesquisa, quatro ciclos de 5 minutos de oclusão coronariana prévios a 40 minutos de oclusão reduziram em 75%o tamanho do infarto induzido, com relação ao grupo controle (submetido à oclusão de 40 minutos). Contudo, o efeito redutor do infarto era perdido quando três horas de oclusão eram aplicadas, enfatizando que a reperfusão oportuna é indispensável para limitar o dano miocárdico no PCI.

O termo PCI refere-se, portanto, a fenômeno paradoxal no qual o pré-tratamento com um estímulo potencialmente nocivo pode aumentar a tolerância celular a estímulos nocivos subsequentes. Assim, o PCI ficou definido como aumento da tolerância à isquemia e reperfusão induzido por breves períodos subletais de isquemia. Desde então, vasto número de estudos tem investigado o PCI com o objetivo principal de explorar este poderoso mecanismo protetor na prática clínica. A proteção do PCI foi observada

em outras espécies animais, como ratos (Barbosa et al, 1996), e em outros órgãos, como o rim (Pell et al, 1998; Lee & Emala, 2000).

Zaugg et al, 2002, resumiram os efeitos dos anestésicos com relação à atividade induzida pelo diazóxido sobre os canais mitoK_{ATP} em cardiomiócitos isolados de ratos adultos, que protegeriam o coração. O fentanil, sevoflurano e isoflurano determinaram potencialização da proteção, enquanto o tiopental sódico, pentobarbital sódico e R(-)-cetamina inibiram a proteção. Já alguns agentes, como etomidato, propofol, S(+)-cetamina e midazolam, não interferiram na proteção.

Delbridge et al, 2007, demonstraram os efeitos da variação da temperatura sobre a concentração sangüínea de creatinina durante período isquêmico de 45 minutos em rim esquerdo de rato, após nefrectomia direita. Os animais foram divididos em 3 grupos: rato sobre colchonete aquecido (grupo 1), sem colchonete (grupo 2) e com sistema de manutenção da temperatura com manta térmica e termômetro retal (grupo 3). A temperatura foi verificada a cada 5 minutos. A média da temperatura ao final do procedimento no grupo 1 foi de 39,7°C e o nível de creatinina, de 574 $\mu\text{mol.L}^{-1} \pm 17,84$, no grupo 2, de 32,6°C e 115 $\mu\text{mol.L}^{-1} \pm 4,06$, respectivamente, e no grupo 3, a temperatura foi mantida entre 36,5°C e 37°C e a creatinina foi de 329 $\mu\text{mol.L}^{-1} \pm 19,18$. A temperatura do animal durante a fase isquêmica da lesão de isquemia e reperfusão afetou significativamente a gravidade da lesão. Hipertermia resultou em grave lesão e insuficiência renal, enquanto hipotermia relativa reduziu a lesão renal. Já a normotermia determinou elevação transitória da creatinina.

Rushing & Britt, 2008, em revisão da literatura enfatizam que além de se assegurar via aérea estável e ventilação adequada para os pacientes com choque hemorrágico, o tratamento primário tem de se voltar para o sangramento e, freqüentemente, este requer intervenção cirúrgica. A reposição da perda sangüínea é necessária para a liberação de oxigênio tecidual, mas ainda resta saber qual seria o tempo no qual se deve realizar essa ressuscitação e a extensão da mesma. Diferentes estratégias de ressuscitação são utilizadas para manter a pressão sangüínea no trauma até que o sangramento seja controlado. Contudo, enquanto se mantém a pressão sangüínea, muitas vezes se piora o sangramento. Dentre os diversos estudos realizados para se saber qual a melhor estratégia de ressuscitação quanto ao tempo em que ela deve ocorrer, o de Turner et al, 2000, mostrou que não há diferença na mortalidade com

administração precoce de fluidos (10,4%) ou tardia (9,8%) em 1309 pacientes traumatizados. O estudo de Bickell et al, 1994, controlado e randomizado em 598 pacientes traumatizados e hipotensos já havia mostrado o mesmo resultado. Talvez o resultado dependa de a intervenção cirúrgica ser realizada de imediato.

Apesar do avanço contínuo das técnicas e dos fármacos anestésicos, o anestesiológico ainda não está livre de complicações perioperatórias. Hipovolemia, frente à hemorragia induzida, provoca reações compensatórias, como ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, interferindo na função do *clearance* renal, podendo levar a isquemia renal. Na prática clínica, muitas vezes observam-se situações de hemorragia aguda em pacientes submetidos a cirurgias que normalmente não apresentariam grandes perdas sangüíneas. Por isso mesmo, o que se observa e se vivencia é que a reposição dessa perda nunca é imediata, tanto com solução cristalóide como com colóide, ou mesmo com sangue. Até que se consiga repor a perda sangüínea, com uma ou outra solução ou componente sangüíneo, decorre um período de tempo. Por outro lado, o paciente anestesiado está recebendo fármacos muitas vezes pouco adequados para situação de hipovolemia (Vane et al, 2004; Ewaldsson et al, 2006; de Souza Silva et al, 2006). Quais as reais conseqüências para o rim trazidas por essa situação? Os resultados encontrados na literatura são controversos, havendo espaço para muitas pesquisas.

2 OBJETIVO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a histologia do rim de rato normotérmico e anestesiado com sevoflurano, em situação de hemorragia aguda e reposição com solução de Ringer sem lactato e hidroxietilamido 130/0,4.

3 MATERIAL E MÉTODO

Para a realização desta pesquisa, foi obtida a autorização da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP (Protocolo da CEEA nº 718 de 26 de março de 2009, sob a presidência da Prof^a Dr^a Regina Helena G. Martins).

Este estudo foi desenvolvido com ratos *Wistars* machos, com pesos superiores a 250g, fornecidos pelo Biotério Central do Campus de Botucatu. Após terem sido anestesiados em câmpula apropriada, com sevoflurano a 4%, os animais foram intubados, mantidos em normotermia sob anestesia com sevoflurano e divididos, de forma randomizada (sorteio), em quatro grupos. A amostra de cada grupo constou de 10 animais.

grupo 1 - G1 - ratos submetidos à hemorragia de 30% da volemia, sem reposição;

grupo 2 - G2 - ratos submetidos à hemorragia de 30% da volemia e reposição com solução de Ringer sem lactato;

grupo 3 – G3 - ratos submetidos à hemorragia de 30% da volemia e reposição com solução de hidroxietilamido (HEA) 130/0,4;

grupo 4 – G4 (*Sham*) - ratos que não foram submetidos à hemorragia.

Os ratos receberam sevoflurano em concentração necessária para manipulação cirúrgica (Vaporizador Ohmeda, EEUU) com oxigênio em FIO₂ de 0,3 e ventilação artificial realizada com o aparelho Rodent Ventilator, mod 683 (EEUU). Após a instalação da anestesia, o animal foi colocado em bancada e coberto com bolsa térmica pré-aquecida, com o objetivo de manter a temperatura corporal entre 37° e 38°C. Em todos os animais houve:

- 1) utilização de termômetro de álcool para leitura contínua da temperatura retal;
- 2) dissecação da veia jugular interna direita para que se introduzisse *venocath* número 24 G; por esta via foi administrado volume de 0,5 mL de solução de NaCl e

iniciou-se a administração de solução de Ringer sem lactato na velocidade de 7 mL/kg/h (Cheng et al, 2003; de Souza Silva et al, 2006; Diego et al, 2007; Marangoni et al, 2007) e de 0,7 mL/kg/h de solução de NaCl; 3) dissecação da artéria carótida esquerda, a qual foi cateterizada com *venocath* número 24 G para leitura da pressão arterial média; para tanto, o *venocath* foi conectado ao aparelho Datex Engstron (Finlândia) que forneceu a leitura contínua da pressão arterial média e da frequência cardíaca dos animais.

Após 30 minutos da cateterização da veia jugular, os animais dos três grupos sofreram sangria correspondente a 30% da volemia, pela artéria carótida, realizada em três momentos com intervalo de 10 minutos entre eles. Em cada momento retiraram-se 10% da volemia, calculada como sendo igual a 6% dos pesos corpóreos dos ratos (Erni et al, 1995). Passados 20 minutos da 3ª e última sangria, a reposição do total de sangue retirado (30% da volemia) foi iniciada, com solução de Ringer sem lactato (G2), em proporção de reposição de 3:1 de sangue retirado, e com solução de hidroxietilamido 130/0,4 (G3), em proporção de 1:1 de sangue retirado (Nascimento et al, 2006). A velocidade de infusão foi aquela que repunha a quantidade em 30 minutos (Ferreira et al, 2005).

Em cada tempo de sangria foram observadas:

1. pressão arterial
2. temperatura retal
3. frequência cardíaca

O volume de sangue da 1ª sangria foi separado para leitura do hematócrito. Vinte minutos após o 3º tempo de sangria, quando se iniciou a reposição do volume total de sangue retirado, coletou-se amostra de 1,5 mL de sangue (que foi repostada imediatamente, em volume três vezes maior que o do volume retirado, com solução de Ringer sem lactato) para leitura do hematócrito, o mesmo acontecendo no final do experimento (momentos M1, M2 e M3, respectivamente).

Na determinação do hematócrito, utilizou-se método do microhematócrito, pelo aparelho Centremicro da Fanem (Brasil), sendo o resultado expresso em porcentagem.

Cessada a reposição com solução de Ringer sem lactato ou de hidroxietilamido

130/0,4, realizou-se laparotomia para nefrectomia bilateral. Imediatamente após, os ratos foram sacrificados com injeção venosa de cloreto de potássio, 19,1%, em dose necessária para que a pressão arterial caísse até zero.

Os rins dos animais foram colocados em solução de Dubosq-Brasil, durante 24 horas, sendo, a seguir, armazenados em álcool 70% para posterior estudo histológico. A solução de Dubosq-Brasil foi utilizada com o intuito de preservar e fixar as estruturas renais para aumentar a fidedignidade da análise histológica. Ela foi preparada na seguinte proporção: 6 mL de formol 40%, 12 mL de álcool absoluto, 1,5 mL de ácido acético e 8 mL de ácido pícrico em solução saturada.

3.1 ATRIBUTOS ESTUDADOS

Os atributos estudados em cada um dos animais dos quatro grupos de estudo foram:

1. peso
2. pressão arterial média
3. temperatura retal
4. hematócrito
5. análise histológica dos rins

3.2 MOMENTOS ESTUDADOS

Com exceção do peso e da análise histológica, os atributos foram estudados em M1, M2, M3, sendo:

- M1** – momento utilizado como controle e obtido 30 minutos após a cateterização da veia jugular, correspondendo ao tempo em que ocorreu a 1ª sangria;
- M2** – momento obtido 40 minutos após a 1ª sangria e 20 minutos após a 3ª sangria;
- M3** – momento obtido 50 minutos após a 3ª sangria, quando os ratos foram sacrificados e foi realizada a nefrectomia bilateral.

3.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após o preparo das lâminas dos rins dos animais, realizado através de fixação em parafina, estas lâminas foram avaliadas quanto à presença de dilatação e congestão vasculares, dilatação e degeneração tubulares e necrose. Aplicados escores correspondentes ao grau de importância de cada uma das possíveis lesões, foi atribuído valor zero à ausência de tais lesões, valor um para lesões leves, dois para lesões moderadas e três para lesões intensas. O patologista que observou as lesões não possuía conhecimento do grupo ao qual pertenciam os rins.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis qualitativas foi utilizada a análise de perfil, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas das médias. Para as variáveis quantitativas foi utilizado o teste Exato de Fisher. O nível de significância utilizado foi de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 PESO DOS RATOS

Tabela 1 - Média $\pm$ desvio padrão (DP) referentes ao peso (g) dos ratos segundo grupo

Grupo	Média	DP
G1	376,0	46,5
G2	340,4	42,0
G3	382,0	44,2
G4	379,0	28,1

p=0,10

Comentário: a amostra de animais é homogênea quanto ao peso.

4.2 HEMATÓCRITO

Tabela 2 - Média $\pm$ desvio padrão referentes ao hematócrito (%) segundo momento e grupo

Grupo	Momentos		
	M1	M2	M3
G1	41,4a	32,1b	31,6b
	A	A	A
	5,5	3,2	3,6
G2	42,9a	34,9b	25,9c
	A	A	B
	3,4	2,6	2,5
G3	43,4a	33,8b	28,0c
	A	A	AB
	3,0	2,3	3,4
G4	38,4a	34,1ab	32,9b
	A	A	A
	5,6	5,5	5,1

Houve efeito da interação grupo x momento ($p < 0,001$)

Letras minúsculas comparam médias de momento em cada grupo

Letras maiúsculas comparam médias de grupo em cada momento

Médias seguidas de pelo menos 1 letra em comum não diferem estatisticamente

Comentário: em

G1: M1 > (M2 = M3)

G2: M1 > M2 > M3

G3: M1 > M2 > M3

G4: M1 = M2 = M3

em

M1: G1 = G2 = G3 = G4

M2: G1 = G2 = G3 = G4

M3: (G1 = G4) > G3 > G2

4.3 TEMPERATURA RETAL

Tabela 3 - Média $\pm$ desvio padrão referentes à temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$) segundo momento e grupo

Grupo	Momentos		
	M1	M2	M3
G1	37,5 0,4	37,9 0,7	37,7 0,5
G2	37,7 0,4	37,6 0,3	37,3 0,3
G3	37,8 0,8	37,7 0,6	37,4 0,5
G4	37,8 0,6	37,8 0,4	37,6 0,6

Não houve efeito da interação grupo x momento ($p=0,57$)

Comentário: a temperatura manteve-se estável durante todo o experimento em todos os grupos estudados.

4.4 PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA

Tabela 4 - Média $\pm$ desvio padrão referentes à pressão arterial média (mmHg) segundo momento e grupo

Grupo	Momento		
	M1	M2	M3
G1	98,0a A 31,1	55,3b B 29,2	33,7c C 9,7
G2	101,1a A 26,1	59,8b B 20,3	56,8b B 21,3
G3	88,3a A 24,0	57,8b B 22,7	85,3a A 26,3
G4	96,5a A 18,3	93,4a A 12,3	70,4b A 16,7

Houve efeito da interação grupo x momento ($p < 0,001$)

Letras minúsculas comparam médias de momento em cada grupo

Letras maiúsculas comparam médias de grupo em cada momento

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem estatisticamente

Comentário: em

G1: $M1 > M2 > M3$

G2: $M1 > (M2 = M3)$

G3: $(M1 = M3) > M2$

G4: $(M1 = M2) > M3$

em

M1: $G1 = G2 = G3 = G4$

M2: $G4 > (G1 = G2 = G3)$

M3: $(G3 = G4) > G2 > G1$

4.5 HISTOLOGIA RENAL: DILATAÇÃO VASCULAR

Tabela 5- Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram dilatação vascular (DV) dentro de cada grupo

Grupo	DV			
	Não		Sim	
	Nº	%	Nº	%
G1	20	100,0	-	0,0
G2	19	95,0	1	5,0
G3	20	100,0	-	0,0
G4	20	100,0	-	0,0

Teste Exato de Fisher p=1,00

Comentário: apenas um rim de rato do grupo G2 apresentou dilatação vascular, o que não foi estatisticamente significativo.

4.6 HISTOLOGIA RENAL: CONGESTÃO VASCULAR

Tabela 6 - Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram congestão vascular (CV) dentro de cada grupo

Grupo	CV			
	Não		Sim	
	Nº	%	Nº	%
G1	20	100,0	-	0,0
G2	19	95,0	1	5,0
G3	20	100,0	-	0,0
G4	20	100,0	-	0,0

Teste Exato de Fisher p=1,00

Comentário: apenas um rim de rato do grupo G2 apresentou congestão vascular, o que não foi estatisticamente significativo.

4.7 HISTOLOGIA RENAL: DILATAÇÃO TUBULAR

Tabela 7 - Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram dilatação tubular (DT) segundo escore e dentro de cada grupo. Escore zero = ausência de DT, escore 1 = DT leve, escore 2 = DT moderada e escore 3 = DT intensa

Grupo	DT							
	0		1		2		3	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
G1	20	100,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
G2	20	100,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
G3	19	95,0	1	5,0	-	0,0	-	0,0
G4	4	20,0	5	25,0	5	25,0	6	30,0

Teste Exato de Fisher $p < 0,0001$

Comentário: o grupo G4 apresentou comportamento diferente dos demais grupos.

4.8 HISTOLOGIA RENAL: DEGENERAÇÃO TUBULAR

Tabela 8 - Distribuição de frequências dos rins de ratos que apresentaram degeneração tubular (DGT) segundo escore e dentro de cada grupo. Escore zero = ausência de DGT, escore 1 = DGT leve, escore 2 = DGT moderada e escore 3 = DGT intensa

Grupo	DGT							
	0		1		2		3	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
G1	7	35,0	5	25,0	8	40,0	-	0,0
G2	8	40,0	-	0,0	11	55,0	1	5,0
G3	-	0,0	14	70,0	6	30,0	-	0,0
G4	17	85,0	1	5,0	-	0,0	2	10,0

Teste Exato de Fisher ($p < 0,0001$)

Comentário: o grupo G4 apresentou maior percentual de escores zero e o G3, nenhum escore zero.

4.9 HISTOLOGIA RENAL: NECROSE TUBULAR

Tabela 9 - Distribuição de freqüências dos rins dos ratos que apresentaram necrose tubular (NT) segundo escore e dentro de cada grupo

Grupo	NT			
	0		3	
	Nº	%	Nº	%
G1	20	100,0	-	0,0
G2	20	100,0	-	0,0
G3	20	100,0	-	0,0
G4	20	100,0	-	0,0

Teste Exato de Fisher (p=1,00)

Comentário: nenhum grupo apresentou necrose tubular.

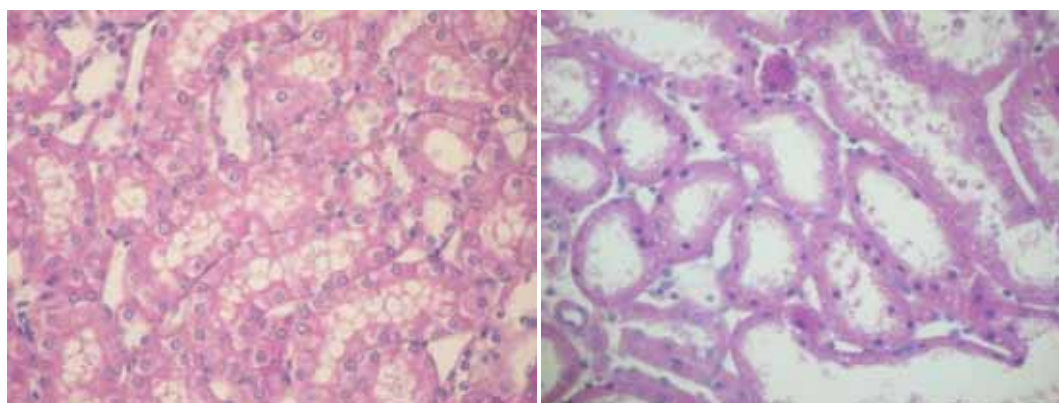


Figura 1 – Análise histológica de rins de ratos submetidos à hemorragia de 30% da volemia e que receberam solução de Ringer sem lactato (esquerda), grupo G2, e solução de hidroxietilamido 130/0,4 (direita), grupo G3. À esquerda, degeneração tubular e à direita, dilatação tubular. Coloração: hematoxilina/eosina - HE.

5 DISCUSSÃO

Alguns valores de temperatura dos animais deste estudo mostram-se compatíveis com hipotermia leve - 37,3°C a 37,8°C. Segundo Massone, 2008, para roedores, uma situação de normotermia seriam temperaturas entre 37,8°C e 39,5°C. Desse modo, os resultados encontrados neste presente estudo estão de acordo com o que foi buscado - mimetizar a prática clínica. Sendo assim, espera-se que paciente anestesiado e que tenha hemorragia apresente até patamares mais baixos de temperatura. Foi evitada hipotermia importante, que poderia ser fator protetor para a isquemia sofrida pelos rins após hemorragia, e hipertermia, que poderia piorar a lesão renal, alterando a disponibilidade de ATP e promovendo aumento nos radicais livres de oxigênio (Zager & Altschuld, 1986). Neste presente estudo, a temperatura manteve-se entre 37°C e 38,5°C, que (Massone, 2008). Não esperávamos, portanto, influência da mesma nos resultados histológicos.

O desenvolvimento de disfunção renal pós-operatória é causa de aumento da morbidade e mortalidade que segue cirurgias de médio e grande porte, principalmente quando sangramento inesperado no intra-operatório surge abruptamente. Embora a literatura apresente inúmeras estratégias que podem prevenir este evento renal, nenhuma, ainda, é tão eficaz quanto a manutenção de normovolemia e normotermia. Assim, Wu et al, 2003, estudaram ratos que sofreram choque hemorrágico e que permaneceram com temperaturas retais entre 33°C e 34°C. Concluíram que a peroxidação lipídica e as respostas inflamatórias sistêmicas ao choque hemorrágico foram minimamente influenciadas por este grau de hipotermia, sendo que a sobrevivência dos ratos foi melhor que a do grupo de temperatura normal ($38 \pm 0,5^\circ\text{C}$).

Entretanto, Reynolds et al, 2008, com revisão bibliográfica, demonstraram que a hipotermia perioperatória é complicação grave da anestesia e cirurgia e está associada a efeito prolongado dos anestésicos inalatórios, por aumentar a solubilidade dos anestésicos voláteis sem alterar a sua potência.

Zager & Altschuld, 1986, por sua vez, utilizaram um modelo experimental de isquemia/reperfusão de 25 a 40 minutos de oclusão das duas artérias renais, em três momentos distintos, com temperaturas diferentes: 32°C-34°C (90°F-93°F), 36.7°C-37.2°C (98°F-99°F) e 38°C-39°C (101°F-103°F). Os resultados demonstraram efeito

protetor da hipotermia nos animais (níveis séricos de creatinina $0,56 \pm 0,06$ mg/dL) quando comparados aos de normotermia (níveis séricos de creatinina $1,4 \pm 0,25$ mg/dL) e aos de hipertermia com aumento da lesão renal (níveis séricos de creatinina $3,2 \pm 0,23$ mg/dL). O volume de solução cristalóide que deve ser repostado em substituição a volume de sangue perdido ainda não foi corretamente calculado e apresentado na literatura porque o cenário de hemorragia varia bastante, o mesmo acontecendo com a reposição desta hemorragia. No presente estudo, houve hemorragia aguda de 30% da volemia durante vinte minutos, sendo que a reposição do sangue perdido, seja com solução de Ringer sem lactato, seja com solução de hidroxietilamido 130/0,4, iniciou-se apenas vinte minutos após o término da hemorragia.

A redução do hematócrito, observada 20 minutos após a terceira e última hemorragia nos quatro grupos experimentais, o que corresponde ao momento M2, pode ter ocorrido pela hidratação basal oferecida aos animais mesmo após a sangria. No grupo em que não houve hemorragia (G4), esta explicação é bastante verdadeira. Também, em choque hemorrágico, constrição arteriolar em órgãos menos essenciais, como a musculatura esquelética, por exemplo, redistribui sangue para órgãos vitais e há diminuição na pressão capilar, facilitando a absorção de fluidos e ocorrendo hemodiluição (Mazzoni et al, 1994).

No grupo em que não houve reposição (G1) e no grupo em que não houve hemorragia (G4), o hematócrito não mais diminuiu no momento M3, ocorrido 50 minutos após a última sangria, mostrando que o mecanismo proposto por Mazzoni et al, 1994, foi estanque. Por outro lado, os dois outros grupos que sofreram hemorragia e receberam, tanto solução de Ringer sem lactato (G2), quanto solução de hidroxietilamido 130/0,4 (G3), continuaram a apresentar redução no valor do hematócrito.

Já com relação aos resultados da pressão arterial média (PAM), cada grupo apresentou comportamento próprio. Em G1, que sangrou e apenas recebeu hidratação basal, sem reposição adequada, a PAM reduziu-se paulatinamente e, em M3, seus valores foram os mais baixos do experimento. No grupo em que não houve sangria, a PAM diminuiu significativamente somente em M3 e isto pode ser devido à ação do sevoflurano em um organismo no qual o estímulo cirúrgico está ausente.

Nos grupos que receberam reposição de volume 20 minutos após o término dos períodos de hemorragia, M2 apresentou-se com hipotensão nos dois. Entretanto, com o hidroxietilamido 130/0,4, em M3 a PAM voltou aos valores normais dos animais, enquanto que com a solução de Ringer, este atributo, no mesmo momento M3, conseguiu apenas se manter igual a M2. Ou seja, para restaurar a pressão arterial, a solução de hidroxietilamido 130/0,4 mostrou-se superior à de Ringer sem lactato.

Recente revisão sobre ressuscitação fluídica (Santry & Alam, 2010) mostra que ainda não há consenso sobre qual tipo de fluido deve ser utilizado para repor perdas sanguíneas. Ambas as estratégias, soluções de cristalóides e colóides, embora tragam benefícios quando mantêm a volemia por determinado período de tempo, também provocam complicações muito sérias ao paciente, aumentando a morbidade e mesmo a mortalidade.

Estudos com animais documentaram a exacerbação da perda sanguínea, com conseqüente aumento da mortalidade, quando a ressuscitação sanguínea leva a pressão arterial para valores normais antes do controle da hemorragia (Kowalenko et al, 1992; Stern et al, 1993; Holmes et al, 2002). A preocupação de que coágulos delicados e precoces podem ser desfeitos pelo retorno rápido à pressão arterial normal tem dado munção para que se pesquisassem diferentes condutas para a ressuscitação, denominadas ressuscitação hipotensiva e ressuscitação retardada.

Após hemorragia, há diminuição da perfusão macrovascular que se manifesta como hipotensão sistêmica e decréscimo na perfusão orgânica periférica (vasos maiores) (Nunn & Freeman, 1964). Em última análise, isto resulta em redução da perfusão microvascular (capilares). A hipoperfusão microvascular cria condições hipóxicas que rompem a membrana mitocondrial, determinando a geração de elétrons livres, agentes da lesão tecidual oxidativa (Abdelrahman et al, 2004; 2005). O choque hemorrágico seguido de ressuscitação provoca estresse oxidativo, que resulta em múltiplos danos a órgãos, sendo o rim um desses alvos de lesão tecidual oxidativa. A heme oxigenase (HO)-1, a enzima que limita a taxa de catabolismo do heme, é induzida por estresse oxidativo, sendo essencial para proteger as células epiteliais do dano oxidativo através das propriedades antiinflamatórias e antiapoptóticas (Arimori et al, 2010).

Ao distúrbio circulatório determinado pelo choque hemorrágico se junta o desequilíbrio imunológico, fazendo da hemorragia uma doença multifatorial, os efeitos inflamatórios e circulatórios ocorrendo simultaneamente. As pesquisas, na tentativa de encontrar tratamento para o choque hemorrágico, têm como alvo não apenas a restauração do volume, mas também a prevenção e a melhora dos efeitos inflamatórios e imunológicos consequentes à hemorragia. Infelizmente, os estudos laboratoriais repetidamente mostram que a escolha do fluido de ressuscitação pode piorar a disfunção celular induzida pela hemorragia, a modulação imunológica e a inflamação (Santry & Alam, 2010).

O hidroxietilamido 130/0,4 (HEA) utilizado neste presente estudo, Voluven[®], tem peso molecular de 130 kDa, sendo um HEA de terceira geração. Suas características farmacológicas condicionam sua eliminação e sua estocagem tecidual e, consequentemente, seus efeitos secundários, como, por exemplo, sobre o funcionamento renal (Wierre et al, 2010). Atualmente, há três mecanismos que explicam o aparecimento de disfunção renal secundária à utilização dos HEA. O primeiro está ligado ao aumento da pressão oncótica nos capilares glomerulares. Esta pressão oncótica irá contrabalancear a pressão de filtração glomerular e, assim, diminuir a filtração glomerular (Schortgen et al, 2008). O aumento da viscosidade da urina tubular associada à formação de depósitos colóides no túbulo seria igualmente a causa do aparecimento de disfunção renal com a utilização de HEA. O terceiro mecanismo seria o aparecimento de lesões histológicas nos túbulos proximais descritas em microscopia eletrônica sob o nome de nefrose osmótica (Dickenman et al, 2008).

Nos rins do grupo G4, que não sofreu hemorragia, em apenas quatro deles não se observa dilatação tubular. Os rins restantes exibem esta dilatação em graus variados. Este achado, em animais que apenas tiveram a instrumentação cirúrgica do modelo experimental pode não representar outra coisa que o aspecto normal dos órgãos. Assim, os rins dos animais dos outros grupos, que não mostram dilatação tubular, é que estariam respondendo à hemorragia de 30% da volemia.

Observou-se que a degeneração tubular foi a lesão mais encontrada nos rins dos animais estudados e os maiores escores estão nos dois grupos em que ocorreu reposição volêmica, G2 e G3, sendo que em G4 houve somente em três rins. Com a reposição de perdas volêmicas pela solução de Ringer sem lactato a lesão foi moderada, enquanto

que o grupo que recebeu hidroxietilamido 130/0,4, G3, apresentou maior número de rins que exibiram escores de degeneração tubular leve.

Do ponto de vista histopatológico, a necrose tubular é o clássico estigma de diminuição na função renal e a avaliação das alterações nos túbulos proximais superficiais e na microcirculação peritubular permanece como boa medida de lesão em modelo de insuficiência renal após choque (Haab et al, 1996; Yin et al, 1996). O desenvolvimento de obstrução intratubular e a perda da integridade tubular com líquido extravasado são características proeminentes na córtex de rins com lesão séria após isquemia (Gaudio et al, 1983; Yin et al, 1996). A descamação das microvilosidades da borda em escova leva à compactação e obstrução intratubular com vesículas citoplasmáticas (Gaudio et al, 1983).

As alterações fisiopatológicas após um dano renal isquêmico são complexas e em parte relacionadas ao tempo do intervalo isquêmico. Após 25 minutos de choque, as células tubulares proximais caminham para lesão progressiva, com perda da borda em escova, formação de vesículas citoplasmáticas, necrose das células epiteliais e cilindros intratubulares abundantes (Gaudio et al, 1983).

Nos túbulos dos rins dos ratos da presente pesquisa, a hemorragia de 30% da volemia determinou, 50 minutos após o término da hemorragia e 30 minutos após reposição desse sangue perdido com solução cristalóide ou colóide, perda da integridade tubular.

Além de assegurar via aérea pérvia com ventilação adequada, o objetivo primário no choque hemorrágico é conter o sangramento e isto, frequentemente, requer intervenção cirúrgica. A reposição da perda sanguínea é necessária para que a liberação de oxigênio para os tecidos continue, mas o tempo para se instalar esta ressuscitação hídrica e o volume desta ressuscitação ainda são objetos de discussão (Rushing & Britt, 2008).

Diferentes estratégias para ressuscitação hídrica são utilizadas para manter pressão sanguínea em pacientes traumatizados até que o sangramento seja controlado. Enquanto se mantém a pressão sanguínea, previne-se o choque, mas muitas vezes piora-se o sangramento. Em razão disso, muitos estudos investigaram ressuscitação precoce versus tardia nesse tipo de pacientes (Bickell et al, 1989, 1994; Martin et al, 1992;

Bickell, 1993; Bourguignon et al, 1998; Turner et al, 2000; Kwan et al, 2003; Revell et al, 2003; Dretzke et al, 2004).

Lesão renal aguda (LRA) pré-renal e necrose tubular aguda (NTA) são partes do espectro de manifestações da hipoperfusão-LRA pré-renal, sendo uma resposta à hipoperfusão de leve a moderada. NTA seria o resultado de hipoperfusão prolongada ou mais grave, muitas vezes coexistindo com outras lesões renais (Mehta et al, 2004). É notável que perdas do fluido extracelular ou hipoperfusão renal transitória (parada cardíaca ou clampeamento aórtico) não causem NTA na ausência tanto de comprometimento renal pré-existente como outra lesão nefrotóxica (Domanovits et al, 2001). A LRA pré-renal difere da NTA isquêmica porque se associa com lesão do parênquima renal e não se resolve imediatamente após a restauração da perfusão renal. Na sua forma mais extrema, a hipoperfusão pode resultar em necrose cortical bilateral e insuficiência renal irreversível.

A lesão tubular é a marca registrada da NTA e é mais grave na parte mais externa da medula renal durante lesão produzida por fluxo sanguíneo reduzido, com conseqüente isquemia (Olsen & Hansen, 1990). Outras áreas de lesão podem ser vistas dentro da córtex renal envolvendo segmentos proximais e distais do néfron. Embora o termo NTA seja muitas vezes utilizado, necrose real das células epiteliais tubulares é um achado menos comum na NTA do que lesão e disfunção celular. Estas formas de lesão celular podem incluir apoptose, perdas de células formando intervalos na arquitetura tubular e da membrana basal com aparecimento de células no lúmen tubular (Brenner 2008).

NTA isquêmica é observada mais freqüentemente em pacientes após grandes cirurgias, trauma, hipovolemia grave, sepse e queimadura (Clarkson et al, 2008). A NTA que complicou após trauma é frequentemente multifatorial em sua origem e devida à combinação de efeitos da hipovolemia e da mioglobina ou de outras toxinas liberadas pelo dano tecidual.

O grupo G4, que foi anestesiado com sevoflurano, sofreu a instrumentação cirúrgica do modelo experimental, mas não a hemorragia de 30% da volemia, tendo apresentado dilatação tubular significativa. Entretanto, este grupo foi o que mostrou menos degeneração tubular – esta ocorreu em apenas três dos vinte rins estudados. Os outros três grupos em que ocorreu a hemorragia exibiram rins com degeneração tubular.

A maior ocorrência desta lesão tubular foi no grupo ressuscitado com solução de HEA – todos os rins apresentaram degeneração tubular - e elas foram de leve e moderada intensidades. O grupo ressuscitado com solução de Ringer sem lactato, embora tenha apresentado mais lesões de moderada intensidade, mostrou alguns rins sem lesão. Já no grupo que não foi ressuscitado e que recebeu apenas solução de Ringer sem lactato em volume pequeno, houve distribuição homogênea em número de rins sem lesão, lesão leve e lesão moderada.

No Laboratório Experimental do Departamento de Anestesiologia já foram realizados vários estudos com modelo experimental semelhante ao desta pesquisa. Nestes outros experimentos, sempre com ratos e com a retirada de sangue correspondente a 30% da volemia, nunca houve antes reposição de volume adequado para essa perda sanguínea, sendo a hidratação basal realizada com solução de Ringer e apenas 5 mL/kg/h. Nos rins de todos esses animais sempre se encontrou necrose tubular (de Souza Silva et al, 2006; Rusafa Neto et al, 2006; Diego et al, 2007; Marangoni et al, 2007). Desse modo, como não foi realizada ressuscitação no grupo G1 desta presente pesquisa, esperava-se encontrar necrose tubular nos rins de seus animais, mas isto não se concretizou. Assim, acredita-se que a hidratação basal empregada, agora com solução de Ringer sem lactato, 7 mL/kg/h, foi suficiente para atenuar as lesões que ocorreriam com o choque hemorrágico. Entretanto, do ponto de vista hemodinâmico, a solução de HEA mostrou-se superior à solução de Ringer em qualquer volume administrado.

6 CONCLUSÃO

Em ratos anestesiados com sevoflurano e que sofreram hemorragia de 30% da volemia, tendo sido ressuscitados com solução de Ringer sem lactato ou com solução de hidroxietilamido 130/0,4, os rins não apresentaram necrose tubular, mas mostraram degeneração tubular com ambas as soluções.

7 REFERÊNCIAS

Abdelrahman M, Collin M, Thiernemann C. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand 15-deoxydelta12,14 prostaglandin J2 reduces the organ injury in hemorrhagic shock. *Shock* 2004;22:555-561.

Abdelrahman M, Mazzon E, Bauer M, Bauer I, Delbose S, Cristol JP, Patel NS, Cuzzocrea S, Thiernemann C. Inhibitors of nadph oxidase reduce the organ injury in hemorrhagic shock. *Shock* 2005;23:107-114.

Abdurrahman O, Cigdem MK, Deveci E, Kaya S, Turhanoglu S, Yaldiz M. Effects of whole blood, crystalloid, and colloid resuscitation of hemorrhagic shock on renal damage in rats; an ultrastructural study. *J Pediatr Surg* 2003;38:1642-1649.

Alam HB, Rhee P. New developments in fluid resuscitation. *Surg Clin North Am* 2007;87:55-72.

Arimori Y, Takahashi T, Nishie H, Inoue K, Shimizu H, Omori E, Kawanishi S, Toda Y, Morimatsu H, Morita K. Role of heme oxygenase-1 in protection of the kidney after hemorrhagic shock. *Int J Mol Med* 2010;26:27-32.

Barbosa B, Sievers RE, Zaugg CE, Wolfe CL. Preconditioning ischemia time determines the degree of glycogen depletion and infarct size reduction in rat hearts. *Am Heart J* 1996;131:224-230.

Bickell WH. Are victims of injury sometimes victimized by attempts at fluid resuscitation? *Ann Emerg Med* 1993;22:225-226.

Bickell WH, Shaftan GW, Mattox KL. Intravenous fluid administration and uncontrolled hemorrhage. *J Trauma* 1989;29:409.

Bickell WH, Wall MJ Jr, Pepe PE, Martin RR, Ginger VF, Allen MK, Mattox KL. Immediate versus delayed fluid resuscitation for hypotensive patients with penetrating torso injuries. *New Engl J Med* 1994;331:1105-1109.

Bourguignon PR, Shackford SR, Shiffer C, Nichols P, Nees AV. Delayed fluid resuscitation of head injury and uncontrolled hemorrhagic shock. *Arch Surg* 1998;133:390-398.

Brenner BM. Brenner & Rector's The Kidney. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008. 943-986.

Cheng YJ, Chien CT, Wang YP, Fu TC, Chen TL, Chen CF. Fluid administration prevents renal dysfunction during hypotension under spinal anesthesia in a rat model. *Acta Anaesthesiol Sin* 2003;41:7-12.

Clarkson MR, Friedwald JJ, Eustace JA, Rabb H. Acute kidney injury. In: Brenner BM. Brenner & Rector's The Kidney. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2008. 943-986.

Cotton BA, Guy JS, Morris Jr JA, Abumrad NN. The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock* 2006;26:115-121.

Delbridge MS, Shrestha BM, Raftery AT, El Nahas AM, Haylor JL. The effect of body temperature in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc* 2007;39:2983-2985.

de Souza Silva M, Castiglia YM, Vianna PT, Viero RM, Braz JR, Cassetari ML. Rat model of depending prostaglandin renal state: effect of ketoprofen. *Ren Fail* 2006;28:77-84.

Dickenman M, Oetl L, Mihatsch MJ. Osmotic nephrosis: acute kidney injury with accumulation of proximal tubular lysosome due to administration of exogenous solutes. *Am J Kidney Dis* 2008;51:491-503.

Diego LA, Marques CD, Vianna PT, Viero RM, Braz JR, Castiglia YM. Glibenclamide effects on renal function and histology after acute hemorrhage in rats under sevoflurane anesthesia. *Ren Fail* 2007;29:1039-1045.

Domanovits H, Schillinger M, Mullner M, Thoennissen J, Sterz F, Xeiner A, Druml W. Acute renal failure after successful cardiopulmonary resuscitation. *Intensive Care Med* 2001;27:1194-1199.

- Dretzke J, Sandercock J, Bayliss S, Bayliss S, Burls A. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of prehospital intravenous fluids in trauma patients. *Health Technol Assess* 2004;8:1-103.
- Erni D, Banic A, Wheatley AM, Sigurdsson GH. Haemorrhage during anaesthesia and surgery: continuous measurements of microcirculatory blood flow in the kidney, liver, skin and skeletal muscle. *Eur J Anaesthesiol* 1995;12:423-429.
- Ewaldsson C-A, Vane LA, Kramer GC, Hahn RG. Adrenergic drugs alter both the fluid kinetics and the hemodynamic responses to volume expansion in sheep. *J Surg Res* 2006;131:7-14.
- Ferreira ELA, Terzi RGG, Silva WA, Moraes AC. Early colloid replacement therapy in a near-fatal model of hemorrhagic shock. *Anesth Analg* 2005;101:1785-1791.
- Gaudio K, Ardito TA, Reilly HF. Accelerated cellular recovery after an ischemic renal injury. *Am J Pathol* 1983;112:338-346.
- Haab F, Julia P, Nochy D. Improvement of postischemic renal function by limitation of initial reperfusion pressure. *J Urol* 1996;155:1089-1093.
- Hirshberg A, Hoyt DB, Mattox KL. Timing of fluid resuscitation shapes the hemodynamic response to uncontrolled hemorrhage: analysis using dynamic modeling. *J Trauma* 2006;60:1221-1227.
- Holmes JF, Sakles JC, Lewis G, Wisneer DH. Effects of delaying fluid resuscitation on an injury to the systemic arterial vasculature. *Acad Emerg Med* 2002;9:267-274.
- Kowalenko T, Stern S, Dronen S, Wang X. Improved outcome with hypotensive resuscitation of uncontrolled hemorrhagic shock in a swine model. *J Trauma* 1992;33:349-353.
- Kwan I, Bunn F, Roberts I. Timing and volume of fluid administration for patients with bleeding. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;3:CD002245.

- Lee HT, Emala CW. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A(1) and A(3) receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278:F380-F387.
- Lema G, Canessa R, Urzua J. Renal preservation in cardiac surgery. *Curr Opin Anesthesiol* 1998;11:9-13.
- Marangoni MA, Hausch A, Vianna PTG, Braz JR, Viero RM, Castiglia YM. Renal function and histology after acute hemorrhage in rats under dexmedetomidine action. *Acta Cir Bras* 2007;22:291-298.
- Martin RR, Bickell WH, Pepe PE, Burch JM, Mattox KL. Prospective evaluation of preoperative fluid resuscitation in hypotensive patients with penetrating truncal injury: a preliminary report. *J Trauma* 1992;33:354-362.
- Massone F. *Anestesiologia Veterinária. Farmacologia e Técnicas*. 5^a ed. Rio de Janeiro: GEN/Guanabara Koogan; 2008. p548.
- Mazzoni MC, Warnke KC, Arfors KE, Skalak TC. Capillary hemodynamics in hemorrhagic shock and reperfusion: in vivo and model analysis. *Am J Physiol* 1994;267(5Pt2):H1928-H1935
- Mehta RL, Pascual MT, Soroko S, Savage BR, Himmelfarb J, Ikizler TA, Paganini EP, Chertow GM. Program to Improve Care in Acute Renal Disease. Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: the PICARD experience. *Kidney Int* 2004;66:1613-1621.
- Moore FA, Mckinley BA, Moore EE. The next generation in shock resuscitation. *Lancet* 2004;363:1988-1996.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-1136
- Nascimento P, Jr, Paiva Filho O, Carvalho LR, Braz JR. Early hemodynamic and renal effects of hemorrhagic shock resuscitation with lactated Ringer's solution, hydroxyethyl

starch, and hypertonic saline with or without 6% dextran-70. *J Surg Res* 2006;136:98-105.

Nunn JF, Freeman J. Problems of oxygenation and oxygen transport during haemorrhage. *Anaesthesia* 1964;19:206-216.

Olsen TS, Hansen HE. Ultrastructure of medullary tubules in ischemic acute tubular necrosis and acute interstitial nephritis in man. *APMIS* 1990;98:1139-1148.

Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 1998;275(5 Pt 2):H1542-H1547.

Revell M, Greaves I, Porter K. Endpoints for fluid resuscitation in hemorrhagic shock. *J Trauma* 2003;54(5 suppl):S63-S67.

Reynolds L, Beckmann J, Kurz A. Perioperative complications of hypothermia. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2008;22:645-57

Rusafa Neto E, Vianna PT, Viero RM, Módolo NS, Ganem EM, Braz RC, Castiglia YM. Influence of S(+)-ketamine analgesia in renal intraoperative ischemia: histological study in rats. *Acta Cir Bras* 2006;21:242-246.

Rushing GD, Britt LD. Reperfusion injury after hemorrhage. A collective review. *Ann Surg* 2008;247:929-937.

Santry HP, Alam HB. Fluid resuscitation: past, present, and the future. *Shock* 2010;33:229-241.

Schortgen F, Girou E, Deye N, Brochard L. The risk associated with hyperoncotic colloids in patients in shock. *Int Care Med* 2008;34:2157-2168

Stern SA, Dronen SC, Birrer P, Wang X. Effect of blood pressure on hemorrhage volume and survival in a near-fatal hemorrhage model incorporating a vascular injury. *Ann Emerg Med* 1993;22:155-163.

Turner J, Nicholl J, Webber L, Cox H, Dixon S, Yates D. A randomised controlled trial of prehospital intravenous fluid replacement therapy in serious trauma. *Health Technol Assess* 2000;4:1-57.

Vane LA, Prough DS, Kinsky MA, Williams CA, Grady JJ, Kramer GC. Effects of different catecholamines on the dynamics of volume expansion of crystalloid infusion. *Anesthesiology* 2004;101:1136-1144.

Wierre F, Robin E, Barreau O, Vallet B. Hydroxyethyl starch. *Ann Fr Anesth Reanim* 2010;29:543-551.

Wu X, Stezoski J, Safar P, Bauer A, Tuerler A, Schwarz N, Kentner R, Behringer W, Kochanek PM, Tisherman SA. Mild hypothermia during hemorrhagic shock in rats improves survival without significant effects on inflammatory responses. *Crit Care Med* 2003;31:195-202.

Yin M, Kurvers AJM, Tangelder GJ. Ischemia-reperfusion injury of rat kidney relates more to tubular than to microcirculatory disturbances. *Ren Fail* 1996;18:211-223.

Zager RA, Altschuld R. Body temperature an important determinant of severity of ischemic renal injury. *Am J Physiol* 1986;251:87-93.

Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch D, Garcia C, Schaub MC. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K_{ATP} channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002;97:15-23.

ANEXOS

Tabela 10 – Valores de temperatura (temp) (°C), pressão arterial média (PAM) (mmHg) e hematócrito (Htc) (%) dos animais dos grupos G1, G2, G3 e G4 nos momentos M1, M2 e M3

Rato /		G1			G2			G3			G4		
Momento		Temp	PAM	Htc	Temp	PAM	Htc	Temp	PAM	Htc	Temp	PAM	Htc
1	M1	37,5	90	36	37,6	117	47	38,5	116	44	38,5	102	40
	M2	38,2	55	28	37,2	40	30	38,6	81	34	38,1	104	35
	M3	37,4	32	31	37,6	73	28	38,0	115	26	36,2	99	24
2	M1	36,9	67	30	37,4	141	44	37,6	78	40	38,1	78	35
	M2	36,2	38	30	38,2	80	35	38,0	100	33	37,5	98	25
	M3	37,4	40	30	37,3	43	26	37,0	78	25	36,9	50	25
3	M1	37,3	106	40	37,4	99	37	37,2	85	44	37,9	99	25
	M2	38,8	43	30	37,8	40	33	37,1	30	31	37,7	95	25
	M3	38,0	24	25	37,8	100	25	37,0	99	26	37,7	45	32
4	M1	37,8	47	48	38,0	61	40	38,1	90	39	38,0	89	38
	M2	37,4	33	36	37,7	92	37	37,6	39	30	37,9	85	38
	M3	38,8	25	33	37,6	30	20	37,1	85	24	37,8	70	38
5	M1	37,8	83	48	37,0	54	40	38,2	75	43	38,3	94	40
	M2	38,8	41	34	37,2	50	35	37,4	35	35	38,2	85	37
	M3	38,0	27	34	37,1	74	28	38,2	38	35	37,7	57	40
6	M1	37,0	114	44	38,0	104	40	37,7	38	43	37,3	115	38
	M2	38,1	92	30	37,8	62	35	36,9	48	37	38,1	78	40
	M3	37,3	27	30	37,0	60	28	37,3	78	32	38,1	65	36
7	M1	37,8	73	40	37,8	104	44	38,8	108	50	37,5	101	46
	M2	37,6	33	28	37,5	88	38	37,5	52	37	37,9	108	38
	M3	38,0	51	28	36,7	58	27	37,7	120	28	38,1	74	35
8	M1	37,6	124	45	38,0	110	47	37,3	116	45	36,5	77	43
	M2	37,8	122	35	37,7	60	33	37,3	81	32	36,8	105	36
	M3	36,9	30	34	37,1	52	24	36,8	65	26	37,5	84	34
9	M1	38,0	133	40	37,9	101	45	36,1	74	43	37,3	76	40
	M2	37,8	40	34	37,3	41	39	38,1	57	34	38,1	73	30
	M3	37,2	32	33	37,4	33	27	38,0	63	28	38,0	75	32
10	M1	37,2	143	43	38,1	120	45	38,1	103	43	38,1	134	39
	M2	38,0	56	36	37,9	45	34	38,5	55	35	37,6	103	37
	M3	37,7	49	38	37,0	45	26	37,0	112	30	37,8	85	33

Tabela 11 – Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 1: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT). Escores de intensidade: zero = ausência de lesão, 1 = lesão de leve intensidade, 2 = lesão de moderada intensidade e 3 = lesão intensa

Grupo 1						
Rato	Rim	DV	CV	DT	DGT	NT
1	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0
2	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
3	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	2+	0
4	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0
5	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0
6	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
7	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
8	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
9	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
10	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	2+	0

Tabela 12 – Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 2: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT). Escores de intensidade: zero = ausência de lesão, 1 = lesão de leve intensidade, 2 = lesão de moderada intensidade e 3 = lesão intensa

Grupo 2						
Rato	Rim	DV	CV	DT	DGT	NT
1	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	0	0
2	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0
3	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0
4	D	0	0	0	0	0
	E	1+	1+	0	2+	0
5	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0
6	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
7	D	0	0	0	3+	0
	E	0	0	0	2+	0
8	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
9	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
10	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0

Tabela 13 – Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 3: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT). Escores de intensidade: zero = ausência de lesão, 1 = lesão de leve intensidade, 2 = lesão de moderada intensidade e 3 = lesão intensa

Grupo 3						
Rato	Rim	DV	CV	DT	DGT	NT
1	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
2	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	2+	0
3	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	1+	0
4	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	0	1+	0
5	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
6	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
7	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
8	D	0	0	0	2+	0
	E	0	0	1+	2+	0
9	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
10	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0

Tabela 14 – Resultados da análise histológica dos rins direitos (D) e esquerdos (E) dos animais do grupo 4: dilatação vascular (DV), congestão vascular (CV), dilatação tubular (DT), degeneração tubular (DGT) e necrose tubular (NT). Escores de intensidade: zero = ausência de lesão, 1 = lesão de leve intensidade, 2 = lesão de moderada intensidade e 3 = lesão intensa

Grupo 4						
Rato	Rim	DV	CV	DT	DGT	NT
1	D	0	0	0	1+	0
	E	0	0	0	1+	0
2	D	0	0	3+	3+	0
	E	0	0	0	1+	0
3	D	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	3+	0
4	D	0	0	3+	0	0
	E	0	0	3+	0	0
5	D	0	0	1+	0	0
	E	0	0	2+	0	0
6	D	0	0	1+	0	0
	E	0	0	2+	0	0
7	D	0	0	2+	0	0
	E	0	0	1+	0	0
8	D	0	0	2+	0	0
	E	0	0	2+	0	0
9	D	0	0	1+	0	0
	E	0	0	3+	0	0
10	D	0	0	3+	0	0
	E	0	0	3+	0	0