

Ana Rita Fortuna Pires

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA HIPOPERFUSÃO A NÍVEL INTESTINAL

Trabalho de Projeto

Mestrado em Enfermagem Veterinária de Animais de Companhia

(Versão Definitiva)



Outubro, 2018

Ana Rita Fortuna Pires

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA HIOPERFUSÃO A NÍVEL INTESTINAL

Trabalho de Projeto

Mestrado em Enfermagem Veterinária de Animais de Companhia

(Versão Definitiva)

Trabalho efetuado sob orientação de
Doutora Helena Maria Vala Correia

Trabalho efetuado sob a co-orientação de
Doutora Rita Marisa da Silva Cruz Paiva



Outubro, 2018

Financiado por Programa COMPETE e pela Fundação para a Ciência e Tecnologia
(COMPETE: FCOMP-01-0124-FEDER-009525)



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu
de Desenvolvimento Regional

“As doutrinas expressas neste trabalho são da exclusiva responsabilidade do autor”

AGRADECIMENTOS

É com grande satisfação e apreço que quero expressar aqui o meu sincero e profundo agradecimento a todos aqueles que tornaram possível a realização deste projeto.

Em primeiro lugar quero agradecer em especial à minha orientadora Professora Doutora Helena Vala, pela sua paciência, preocupação, colaboração e disponibilidade sempre demonstrada, sem a sua orientação este projeto não seria possível.

Agradeço também ao Programa COMPETE e a Fundação para a Ciência e Tecnologia (COMPETE: FCOMP-01-0124-FEDER-009525), pelo financiamento deste projeto.

Quero agradecer à Doutora Rita Paiva minha co-orientadora e à Doutora Carmén Nóbrega por todo o apoio e ensinamentos ao longo destes anos. Por fim a todo o excelente grupo de docentes da ESAV.

A todos os funcionários não docentes da ESAV, sempre disponíveis para ajudar naquilo que fosse necessário. Em especial à Engenheira Carla Garcia, pela ajuda, amizade, ensinamento e disponibilidade. Agradeço também ao Senhor Maia pela sua amizade e disponibilidade sempre demonstrada.

À Doutora Ana Liza Ortiz e ao Doutor Davide Ferreira pela disponibilidade e colaboração demonstrada.

Aos meus pais, José e Dora, pois apesar da distância nestes últimos três anos estiveram sempre presentes, pelo apoio sempre demonstrado e a quem devo toda a minha formação e valores.

À minha irmã Soraia, por estar sempre do meu lado e me apoiar em todas as ocasiões.

Ao meu namorado Ricardo, pelo seu companheirismo, força, paciência e ânimo para nunca desistir e conseguir concluir esta etapa.

Por último quero agradecer a todos os meus amigos e familiares que estiveram do meu lado ao longo deste tempo, em especial à Adriana, pela sua amizade e dias após dias intensivos passados na biblioteca para que este projeto estivesse concluído.

RESUMO

A hipovolémia e a hipoperfusão são condições frequentes nos Centros de Atendimento Médico-Veterinários, secundárias a eventos traumáticos, tais como acidentes rodoviários, lesões penetrantes, mordeduras de animais e procedimentos cirúrgicos, eventos que colocam em perigo a vida dos animais uma vez que, uma das principais causas da hipoperfusão severa em emergências veterinárias é a hemorragia.

A sobrevivência dos animais em estado de hipoperfusão depende, em muito, do controlo da hemorragia, da eficiência da reposição da volémia perdida e dos esforços feitos para preservar ao máximo a integridade de todos os órgãos. Para tal, é essencial o recurso à fluidoterapia. Ainda não se sabe ao certo qual o melhor fluido, coloide ou cristalóide, para situações de hipoperfusão.

O objetivo deste estudo, consistiu na comparação do efeito de dois fluidos distintos, um cristalóide o Lactato de Ringer e um coloide o Hidroxietilamido 130/0,4 na perfusão intestinal de um modelo animal submetido a anestesia geral e posterior hemorragia provocada, seguido de reposição volémica.

Para atingir este objetivo recorreu-se ao modelo suíno, tentando mimetizar as circunstâncias presentes nos casos de perdas de sangue agudas traumáticas, particularmente durante intervenções cirúrgicas sob anestesia geral.

A fim de avaliar as diferenças obtidas nos grupos interrelacionados, efetuou-se o estudo histopatológico para detetar lesões teciduais, usando a coloração de rotina de hematoxilina e eosina, e o estudo de deteção de fenómenos pré e apoptóticos, através de métodos imunohistoquímicos (Citocromo C e TUNEL) e de imunofluorescência (M30).

No final do estudo foi possível concluir que o Lactato de Ringer possui uma maior capacidade de prevenção da arquitetura celular, em situações de hipoperfusão, hemorragia e recuperação sob anestesia geral a nível intestinal, quando comparado com o Hidroxietilamido 130/0,4.

PALAVRAS-CHAVE:

Hipoperfusão; Reperfusão; Lactato de Ringer; Hidroxietilamido 130/04; Intestino delgado; Imunohistoquímica.

ABSTRACT

Hypovolaemia and hypoperfusion are frequent conditions in the Medical-Veterinary Care Centers, secondary to traumatic events, such as road accidents, penetrating injuries, animal bites and surgical procedures, events that endanger the lives of the respective victims, one of the main causes of severe hypoperfusion in veterinary emergencies is hemorrhage.

The survival of the animals in a state of hypoperfusion depends largely on the control of bleeding, the efficiency of the replacement of the lost volume and the efforts made to preserve the integrity of all organs to the maximum extent. For this, the use of fluid therapy is essential. The best fluid, colloid or crystalloid, for hypoperfusion situations is not yet known.

The objective of this study was to compare the effect of two distinct fluids, a crystalloid Ringer's Lactate and a colloid o Hydroxyethylamido 130 / 0.4 in the intestinal perfusion of an animal model submitted to general anesthesia and subsequent bleeding, followed by volume replacement.

To achieve this goal, the pig model was used, trying to mimic the circumstances present in cases of acute traumatic blood loss, particularly during surgical procedures under general anesthesia.

In order to evaluate the differences obtained in the interrelated groups, the histopathological study was carried out to detect tissue lesions using routine staining of hematoxylin and eosin, and the study of detection of pre and apoptotic phenomena using immunohistochemical methods (Cytochrome C and TUNEL) and immunofluorescence (M30).

At the end of the study, it was possible to conclude that Ringer Lactate has a greater ability to prevent cellular architecture, in situations of hypoperfusion, hemorrhage and recovery under general anesthesia at intestinal level, when compared to Hydroxyethylamido 130 / 0.4.

KEY WORDS:

Hypoperfusion; Reperfusion; Ringer Lactate; Hydroxyethylamido 130/04; Small intestine; Immunohistochemistry.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
ÍNDICE GERAL	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE QUADROS	XIV
GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XVI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. HIPOVOLÊMIA, HIPOPERFUSÃO E CHOQUE HIPOVOLÉMICO	3
2.1.1. ETIOLOGIA DA HIPOPERFUSÃO	5
2.1.2. SINAIS CLÍNICOS	7
2.1.3. AVALIAÇÃO DA HIPOPERFUSÃO	10
2.1.4. FISILOGIA DA HIPOPERFUSÃO/REPERFUSÃO	14
2.2. EFEITOS DA HIPOPERFUSÃO A NÍVEL INTESTINAL	29
2.2.1. ANATOMIA INTESTINO DELGADO	29
2.2.2. HISTOLOGIA DO SISTEMA DIGESTIVO – INTESTINO DELGADO	30
2.2.3. EFEITOS DA HIPOPERFUSÃO A NÍVEL INTESTINAL	36
2.3. TRATAMENTO DA HIPOPERFUSÃO	41
2.3.1. FLUIDOTERAPIA	41
2.3.1.1. FISILOGIA DA HIPOPERFUSÃO	42
2.3.1.3. PLANO DE FLUIDOTERAPIA	45
2.3.1.4. TIPOS DE FLUIDOS	47
2.3.2. MONITORIZAÇÃO	64
2.3.3. TERAPIAS AUXILIARES	71
2.4. PAPEL DO ENFERMEIRO VETERINÁRIO EM CASOS DE HIPOPERFUSÃO ..	72
3. PARTE PRÁTICA	74
3.1. OBJETIVOS	74
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	74
3.2.1. ANESTESIA, MONITORIZAÇÃO E EQUIPAMENTO	76

3.3. PROTOCOLO CLÍNICO	78
3.3.1. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	78
3.3.1.1. COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA E EOSINA.....	81
3.3.1.2. CITOCROMO C.....	83
3.3.1.3. TUNEL.....	85
3.3.1.4. M30.....	86
3.3.1.5. OBSERVAÇÕES	88
3.4. RESULTADOS	92
3.4.1. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	92
3.4.1.1. COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA E EOSINA.....	92
3.4.1.2. CITOCROMO C.....	98
3.4.1.3. TUNEL.....	103
3.4.1.4. M30.....	117
3.5. DISCUSSÃO	131
3.6. CONCLUSÕES.....	136
3.7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	137
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	138

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distinção entre hipovolémia, hipoperfusão e choque (adaptado de Beeb & Funk, 2001; Al-Khafaji & Webb, 2004; Pachtinger & Drobatz, 2008; Donohoe, 2012; Jasani, 2012).	4
Figura 2. Hipovolémia absoluta vs relativa (adaptado de Al-Khafaji & Webb, 2004).....	6
Figura 3. Causas de hipovolémia absoluta e relativa (Adaptado de Al-Khafaji & Webb, 2004). .	6
Figura 4. Causas de choque hipovolémico (Adaptado de Mathews, 2006).....	7
Figura 5. Sinais de hipoperfusão (Adaptado de Al-khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Adamantos, 2008; Boag, 2011; Aldrige & O'Dwyer, 2013).	8
Figura 6. Parâmetros clínicos de perfusão normais em cães e gatos (Adaptado de Boag, 2011).	12
Figura 7. Consequências e resultados da hipoperfusão (Adaptado de Pachtinger & Drobatz, 2008).....	15
Figura 8. Fatores determinantes do débito cardíaco (Adaptado de Pachtinger & Drobatz, 2008).	15
Figura 9. Esquema simplificado dos processos que envolvem a respiração anaeróbia e aeróbia (adaptado de http://educacao.globo.com/biologia/assunto/fisiologia-celular/respiracao-celular-aerobica-e-fermentacao.html).....	20
Figura 10. Diferença entre apoptose e necrose (adaptado de Grivincich et al., 2007).	23
Figura 11. Vias de ocorrência da apoptose (adaptado de Elsevier. Kumar et al: Robbins Basic Pathology 8e - http://www.studentconsult.com/)	25
Figura 12. Via intrínseca da apoptose (Adaptado de http://www.creces.cl/Contenido?art=2113).	26
Figura 13. Via Extrínseca e Intrínseca da apoptose (Adaptado de http://www.mdpi.com/1999-4915/4/12/3831).....	28
Figura 15. Estrutura anatômica do duodeno.	29
Figura 16. Estrutura geral do trato gastrointestinal.	30
Figura 17. Duodeno (H&E; Obj 4x), são visíveis as diferentes camadas constituintes: mucosa (1) com as vilosidades e as glândulas intestinais, a submucosa (2) e a camada muscular (3).	31
Figura 18. Estômago (Obj. 40x) Plexo submucoso ou de Meissner (A); Intestino delgado (Obj. 50 x) Plexo mientérico ou de Aurebach (B).....	32
Figura 19. Duodeno (H&E, Obj. 20x), observa-se as vilosidades estas são revestidas por epitélio cilíndrico simples (1). No pólo apical das vilosidades observa-se a bordadura em escova (2). No interior das vilosidades observa-se a lâmina própria (3). Observam-se também células caliciformes (4).	33
Figura 20. Duodeno (H&E, Obj. 10x) Na mucosa podem observar-se, as glândulas intestinais ou de Lieberkühn (1). Na submucosa observam-se numerosas glândulas de Brunner (2) e a camada muscular (3).	34
Figura 21. Glândulas intestinais ou de Lieberkuhn (H&E, Obj. 40x) (A); Glândulas de Brunner (H&E, Obj. 40x) (B).....	35

Figura 22. Placas de Peyer localizada na camada mucosa e submucosa do íleo (H&E, Obj. 40x).	36
Figura 23. Esquema de compartimento de fluidos (Adaptado de Driessen et al., 2006; Hughes, 2006; Liss, 2012).	42
Figura 24. Esquema dos movimentos entre os compartimentos intravascular, intersticial e intracelular (Adaptado de Liss, 2012).	43
Figura 25. Redistribuição do fluido cristalóide após 30-60 min de administração (Adaptado de Liss, 2012; Donohoe, 2015; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).	50
Figura 26. Relação entre as principais vantagens e desvantagens de cristalóides e colóides (Adaptado de Pina, 2014).	63
Figura 27. Protocolo em casos de hipovolémia devida a vasodilatação periférica caso esta contribua para a hipotensão do animal anestesiado (Davis et al., 2013).	71
Figura 28. Cronograma de procedimentos realizado em cada grupo de animais.	75
Figura 29. Procedimentos cirúrgicos	77
Figura 30. Análise histopatológica. A – Processador. Equipamento que realiza, de modo automático, os passos de desidratação, diafanização e impregnação; B – Bancada de inclusão; C – Blocos de parafina com tecidos incluídos no interior; D – Corte de blocos de parafina no micrótomo; E – Secções "enrugadas" colocadas em banho-maria; F – Equipamento que realiza, de modo automático o processo de desparafinação e hidratação das secções histológicas.	80
Figura 31. Coloração de rotina com hematoxilina e eosina.	82
Figura 32. Processo de desidratação.	82
Figura 33. Tratamento de recuperação antigénica para citocromo c.	83
Figura 34. Protocolo realizado na técnica imunohistoquímica de citocromo C.	84
Figura 35. Protocolo realizado na técnica imunohistoquímica de TUNEL.	86
Figura 36. Processo de recuperação antigénica para uso do anticorpo M30.	87
Figura 37. Processo de incubação do anticorpo M30.	88
Figura 38. Escala semiquantitativa usada na técnica H&E.	89
Figura 39. Escala de diversos Graus de lesão de mucosa (Adaptado de Chiu et al., 1970). ..	89
Figura 40. Escala semiquantitativa, utilizada nas técnicas Citocromo C, TUNEL e M30 (Adaptado de Cheng et al., 2011).	90
Figura 41. Escala H-Score, utilizada nas técnicas TUNEL e M30 (Adaptado de Detre et al., 1995).	91
Figura 42. Método de contagem H-Score (Adaptado Pina, 2012).	91
Figura 43. Edema na região da submucosa. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (B, C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 2 (D).	95
Figura 44. Edema com presente dilatação dos quilíferos. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A); reação débil (grau 1) num animal do grupo 1 (B); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 2 (C e D).	95

Figura 45. Congestão. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo controlo (B); Reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (C); reação débil (grau 1) com presença de hiperémia de reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (D).....	96
Figura 46. Inflamação. Infiltrado inflamatório mononuclear e presença de congestão, reação moderada (grau 2) num animal do grupo 3 (A); infiltrado inflamatório mononuclear, reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (B).....	96
Figura 47. Descamação epitelial. Reação débil (grau 1), num animal do grupo controlo (A e B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (D).....	97
Figura 48. Citocromo C, região duodeno. Reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (A), e num animal do grupo controlo (B e C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (D e E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2 (G e H).	100
Figura 49. Citocromo C região jejuno. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (C) e num animal do grupo 2 (D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo controlo (E), num animal do grupo 1 (F) e num animal do grupo 2 (G); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2.	101
Figura 50. Citocromo C região íleo. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (B) e num animal do grupo 2 (C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo controlo (D) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa num animal do grupo controlo (G) e num animal do grupo 1 (H).....	102
Figura 51, TUNEL região duodeno. Reação débil (Grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo controlo (B e C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo controlo (D) e num animal do grupo 2 (E); reação muito intensa (grau 4) animal do grupo 1 (F), num animal do grupo 2 (G) e num animal do grupo controlo (H). 105	
Figura 52. TUNEL região jejuno. Reação moderada (grau 2) num animal do grupo controlo (A e B) e num animal do grupo 1 (C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (D e E) e num animal do grupo (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2 (G e H).	106
Figura 53. TUNEL região íleo. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 1 (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (C e D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 2 (E) e num animal do grupo controlo (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2 (G e H).....	107
Figura 54. Número de animais dos grupos em estudo por intervalo de H-score nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.....	112
Figura 55. Número de animais dos grupos em estudo em cada intervalo de número total de células apoptóticas nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.	113

Figura 56. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de índice apoptótico nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.....	115
Figura 57. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de total de células apoptóticas/mm ² nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.	116
Figura 58. M30 região duodeno. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 2 (C) e num animal do grupo controlo (D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo controlo (G) e num animal do grupo 1 (H).....	119
Figura 59. M30 região jejuno. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A) e num animal do grupo 1 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 2 (C e D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 1 (G e H).....	120
Figura 60. M30 região íleo. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 1 (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo controlo (C) e num animal do grupo 1 (D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo controlo (G) e num animal do grupo 2 (H).....	121
Figura 61. Número de animais dos grupos em estudo por intervalo de H-score nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.....	126
Figura 62. Número de animais dos grupos em estudo em cada intervalo de número total de células apoptóticas nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.	127
Figura 63. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de índice apoptótico nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.....	129
Figura 64. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de total de células apoptóticas/mm ² nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.	130

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Principais etiologias da hipoperfusão (adaptado de Buchard <i>et al.</i> , 2013).....	5
Quadro 2. Parâmetros do exame clínico relacionados com as diferentes fases de hipovolémia (Adaptado de Boag & Hughes, 2005).....	9
Quadro 3. Alterações dos parâmetros de perfusão, detetáveis em diferentes graus de hipovolémia em cães (Adaptado de Aldridge & O'Dwyer, 2013).	13
Quadro 4. Parâmetros clínicos em gatos hipovolémicos (Adaptado de Boag, 2011; Jasani, 2011).....	13
Quadro 5. Mecanismos compensatórios fisiológicas (adaptado de Carcilho <i>et al.</i> , 2007).	18
Quadro 6. Estimativa da percentagem de desidratação do animal, considerando as alterações detetadas na avaliação clínica do mesmo (Adaptado de DiBartola & Bateman, 2012; Liss, 2012; Mazzaferro & Powell, 2013; Donohoe, 2015).....	45
Quadro 7. Fórmula de calculo do volume de manutenção em cães e gatos (Adaptado de Liss, 2012; Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).....	47
Quadro 8. Composição de fluidos cristaloides (Adaptado de Pachtinger & Drobatz, 2008; Mazzaferro, 2013).....	49
Quadro 9. Fluidos cristaloides e as suas indicações e contra-indicações de administração (Adaptado de Haskins & Macintire, 2012; Pascoe, 2012; Mazzaferro & Powell, 2013; Donohoe, 2015).	52
Quadro 10. Linhas de orientação gerais da terapia com lactato de Ringer em cães e gatos hipovolémicos (Adaptado de Jasani, 2011).....	54
Quadro 11. Propriedades das soluções coloides (Adaptado de Mazzaferro, 2013).....	57
Quadro 12. Doses recomendadas de soluções coloides disponíveis para uso veterinário (Adaptado de Mazzaferro, 2013).	58
Quadro 13. Principais aplicações dos fluidos coloides (Mazzaferro, 2013).....	60
Quadro 14. Interpretação dos valores de pressão venosa central (Adaptado de Mazzaferro, 2013).....	68
Quadro 15. Q-Score (Adaptado de Cheg <i>et al.</i> , 2011 e Fedchenko & Reifenrath, 2014).....	90
Quadro 16. Classificação de lesões histopatológicas observadas com a coloração de rotina hematoxilina & eosina.....	94
Quadro 17. Classificação das lesões de descamação.	97
Quadro 18. Média Q-Score região duodeno.	99
Quadro 19. Média Q-Score região jejuno.....	99
Quadro 20. Média Q-Score região íleo.	99
Quadro 21. Média Q-Score Intestino delgado.....	99
Quadro 22. Média Q-Score região Duodeno.....	104
Quadro 23. Média Q-Score região Jejuno.....	104
Quadro 24. Média Q-Score região Íleo.	104
Quadro 25. Média Q-Score intestino delgado.....	104

Quadro 27. Resultados obtidos com recurso a marcação por método TUNEL.	110
Quadro 28. Resultados obtidos com recurso a marcação por método TUNEL.	111
Quadro 29. Média Q-Score região Duodeno.	118
Quadro 30. Média Q-Score região Jejuno.	118
Quadro 31. Média Q-Score região Íleo.	118
Quadro 32. Média Q-Score Intestino Delgado.	118
Quadro 33. Resultados obtidos com recurso a marcação por método M30.	124
Quadro 34. Resultados obtidos com recurso a marcação por M30.	125

GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg – Micrograma

ATP – Adenosina-trifosfato

BPM – Batidas por minuto

CAMV – Centro de Atendimento Médico Veterinário

CaO₂ – Conteúdo arterial de oxigénio

CID – Coagulação intravascular disseminada

Da – Daltons

EtCO₂ – Concentração de dióxido de carbono da expiração

EV – Enfermeiro Veterinário

G – Gauge

H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio

HES – Hidroxietilamido

ID – Intestino delgado

LR – Lactato de Ringer

mEq – Miliequivalente

mg – Miligrama

min – Minuto

MM – Membranas mucosas

mmHg – Milímetros de mercúrio

mmol – Milésimo de mole

MODS – Síndrome de disfunção multiorgânica

MV – Médico veterinário

mOsm – Miliosmol

NaCl – Cloreto de sódio

NAD⁺ – Nicotinamida adenina di-nucleotídeo

ON – Óxido nítrico

PaCO₂ – Pressão arterial de dióxido de carbono

PAM – Pressão arterial média

PaO₂ – Pressão arterial de oxigénio

PCO₂ – Pressão parcial de dióxido de carbono

PO₂ – Pressão parcial de oxigénio

PVC – Pressão venosa central

RC – Ritmo cardíaco

RLO – Radicais livres de oxigénio

S - Segundos

SaO₂ – Saturação de oxigénio no sangue

SIRS – Síndrome de resposta inflamatória sistémica

SRAA - Sistema renina-angiotensina-aldosterona

TIVA – Anestesia total intravenosa

TNF- α – Fator de necrose tumoral α

TRC – Tempo de repleção capilar

XD – Xantina desidrogenase

XO – Xantina oxidase

1. INTRODUÇÃO

A perfusão refere-se à distribuição de oxigénio e nutrientes às células, órgãos e tecidos, levada a cabo pelo sistema circulatório. Quando atinge níveis abaixo do normal é definida por hipoperfusão (Beeb & Funk, 2001; Boag & Hughes, 2005; Elling, 2012).

As etiologias principais da condição de hipoperfusão são, a diminuição do retorno venoso e a diminuição da função miocárdica. Por sua vez, a causa mais comum da diminuição do retorno venoso é a hipovolémia, sendo a hemorragia uma das várias etiologias da hipovolémia (Buchard *et al.*, 2013).

Apesar dos avanços na sua abordagem terapêutica, a hemorragia severa continua a ser a principal causa de morbilidade e mortalidade em animais vítimas de trauma ou sujeitos a intervenção cirúrgica, tal como em humanos (Hughes, 2006; Pachtinger & Drobotz, 2008).

O exame físico com foco nos sistemas respiratório, cardiovascular e neurológico, é o suporte da avaliação da perfusão tecidual. O reconhecimento e o tratamento precoce de situações de hipoperfusão e a correção da causa subjacente à mesma são a chave para um melhor prognóstico (Boag & Hughes, 2005).

A abordagem mais eficaz do tratamento da hipoperfusão baseia-se na antecipação dos eventos responsáveis pelo estado de perfusão inadequada. Numa fase inicial, o objetivo do tratamento consiste na reposição do *deficit* de volume intravascular e na manutenção de um estado de oxigenação eficaz, com recurso à fluidoterapia (Puyana, 2005; Day & Bateman, 2006; Hughes, 2006).

A escolha racional do tipo e taxa de fluidos intravasculares a administrar só pode ser feita se for compreendida a dinâmica dos fluidos e se for feita uma avaliação correta da causa adjacente à perda de fluidos (Hughes, 2006; Adamantos, 2008).

As técnicas de fluidoterapia e os fluidos disponíveis para a reversão de situações de hipoperfusão são inúmeras. No entanto, nem todos são adequados para todos os pacientes, sendo que uns se ajustam mais a umas situações que os restantes. Genericamente, os fluidos encontram-se divididos em dois grupos: os cristaloides e os coloides, sendo que, até aos dias de hoje, não foi encontrado

um consenso sobre qual destes grupos é o mais adequado numa situação de hipoperfusão (Hughes, 2006).

O papel destes fluidos na minimização das lesões celulares e tecidulares dos diferentes órgãos, resultantes da situação de hipoperfusão, nunca foi avaliado ao pormenor, razão pela qual se propõe, como objetivo deste projeto, o estudo aprofundado das lesões histopatológicas e dos fenómenos apoptóticos que decorrem no intestino delgado, comparando a reperfusão feita com recurso ao Lactato de Ringer (LR), um cristalóide, e pelo hidroxietilamido 130/0,4 (HES), um colóide.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. HIPOVOLÊMIA, HIPOPERFUSÃO E CHOQUE HIPOVOLÊMICO

Todas as células do corpo humano requerem oxigênio para o seu correto funcionamento. Quando as células ficam em estado de anoxia por um período de tempo, estas deixam de funcionar corretamente podendo até, eventualmente, ocorrer a sua morte (Beeb & Funk, 2001). Os órgãos e os tecidos periféricos contam com um espaço de fluido intravascular adequado (perfusão adequada) para a entrega de oxigênio e nutrientes e a remoção de subprodutos do metabolismo tecidual (Jasani, 2011).

A perfusão é o termo que define a distribuição de oxigênio e nutrientes às células, órgãos e tecidos, levado a cabo pelo sistema circulatório (Beeb & Funk, 2001; Boag & Hughes, 2005; Elling, 2012). Quando a perfusão atinge níveis abaixo do normal é denominada por hipoperfusão (Beeb & Funk, 2001).

A hipoperfusão é caracterizada pelo desequilíbrio entre as necessidades de oxigênio e a sua entrega aos tecidos e órgãos. Embora possa ocorrer a nível local, também é possível ocorrer a nível sistêmico (Beeb & Funk, 2001; Meregalli *et al.*, 2004; Jasani, 2011; Elling, 2012).

O termo choque é usado clinicamente para descrever a condição de um paciente em que a hipoperfusão sistêmica atingiu um certo nível de gravidade, suficiente para o paciente manifestar uma série de sinais clínicos característicos (Jasani, 2011).

O choque é definido como uma inadequada produção de energia a nível celular, ocorre secundariamente a uma má perfusão dos tecidos quer pelo baixo fluxo sanguíneo quer por uma distribuição desequilibrada do mesmo, o que leva ao decréscimo de oxigênio distribuído pelos tecidos (De Laforcade & Silverstein, 2009; Moore & Mortaugh, 2001; Porter *et al.*, 2014).

O choque pode ser classificado em quatro subgrupos tendo em conta a sua fisiologia: hipovolêmico, cardiogênico, obstrutivo e distributivo, sendo o choque hipovolêmico o mais comum em emergências médico-veterinárias. Este choque é caracterizado pelo volume circulatório insuficiente, que origina um aporte inadequado de oxigênio e nutrientes aos tecidos, levando à acumulação de subprodutos do metabolismo celular (Boag & Hughes, 2005; Boller & Otto, 2010).

A depleção do volume intravascular está normalmente associada a hemorragias internas e externas ou a perdas excessivas de fluidos corporais, como vômito severo, diarreia e poliúria (Kurmar & Parrillo, 2001; Day & Bateman, 2006; De Laforcade & Silvertein, 2009).

A hipovolémia é a condição em que o volume de fluidos circulantes intravasculares se encontra diminuído, relativamente ao espaço vascular total. Esta pode ser o resultado de um déficit real no volume de fluido (casos de hemorragias, vômito ou poliúria sem uma polidipsia adequada), ou de um déficit relativo de volume de fluido (alterações distributivas, em que há expansão do espaço vascular, sem uma alteração no volume de sangue (vasodilatação) ou do resultado de ambos (Al-Khafaji & Webb, 2004; Pachtinger & Drobotz, 2008; Donohoe, 2012).

Na figura 1, encontra-se o resumo das diferenças entre os três conceitos abordados: hipovolémia, hipoperfusão e choque (Beeb & Funk, 2001; Al-Khafaji & Webb, 2004; Pachtinger & Drobotz, 2008; Donohoe, 2012; Jasani, 2012).

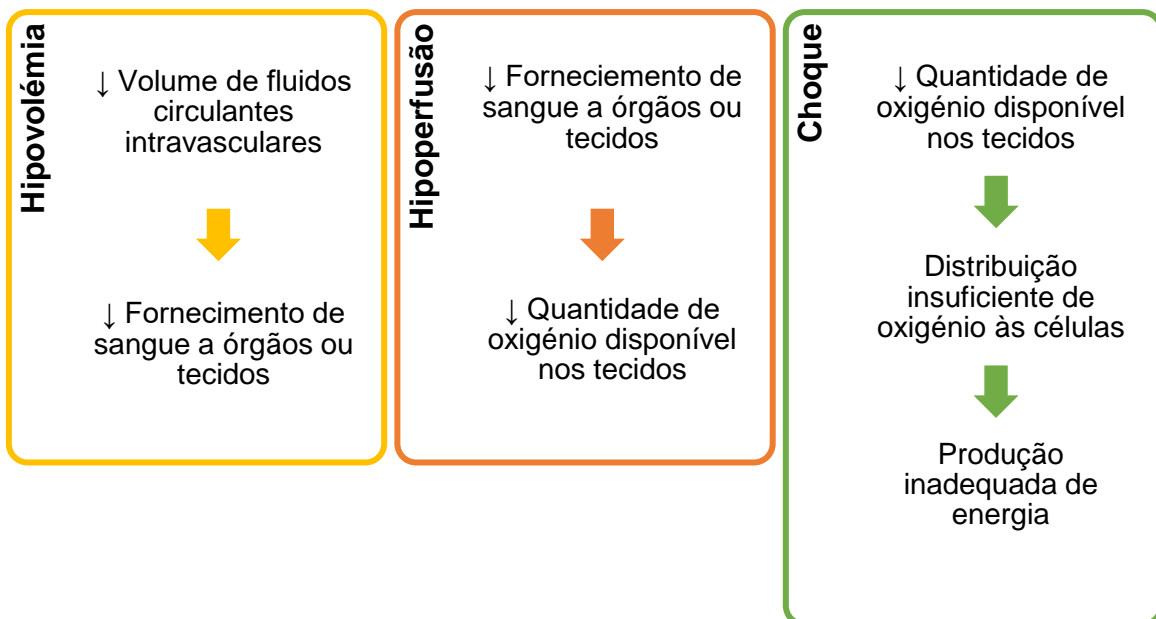


Figura 1. Distinção entre hipovolémia, hipoperfusão e choque (adaptado de Beeb & Funk, 2001; Al-Khafaji & Webb, 2004; Pachtinger & Drobotz, 2008; Donohoe, 2012; Jasani, 2012).

2.1.1. ETIOLOGIA DA HIPOPERFUSÃO

As etiologias primárias do estado de hipoperfusão são a diminuição do retorno venoso e a diminuição da função miocárdica. Sendo a hipovolémia, por sua vez, a causa mais comum da diminuição do retorno venoso (Buchard *et al.*, 2013).

A hipovolémia pode ter diversas etiologias, nomeadamente, a hemorragia, a inflamação, a infecção severa, o trauma, a pancreatite, ou outras causas de peritonite, queimaduras, vômitos ou outras perdas intestinais, diurese excessiva e alimentação inadequada (Buchard *et al.*, 2013).

No quadro 1 encontram-se as principais etiologias da hipoperfusão.

Quadro 1. Principais etiologias da hipoperfusão (adaptado de Buchard *et al.*, 2013).

	Hipovolémia
	Tamponamento pericárdico
	Pneumotórax hipertensivo
Diminuição do retorno venoso	Pressão abdominal aumentada
	Obstrução intestinal
	Pneumoperitoneu hipertensivo
	Hemorragia massiva
	Laparoscopia diagnóstica
	Ascite
Pressão expiratória final positiva	Aumento da pressão intratorácica com diminuição do débito cardíaco
Diminuição da função do miocárdio	Insuficiência cardíaca congestiva
	Choque cardiogénico

A hipovolémia pode ser classificada como absoluta ou relativa. A hipovolémia absoluta refere-se à perda real do volume do espaço extracelular, enquanto que a hipovolémia relativa refere-se a uma redistribuição inadequada de fluidos corporais ou dilatação do espaço intravascular, resultando numa diminuição no volume intravascular efetivo (Figura 2) (Al-Khafaji & Webb, 2004).

Hipovolémia absoluta

- Perda real do volume do espaço extracelular

Hipovolémia relativa

- Redistribuição inadequada de fluidos corporais ou dilatação do espaço intravascular
- Diminuição no volume intravascular efetivo

Figura 2. Hipovolémia absoluta vs relativa (adaptado de Al-Khafaji & Webb, 2004).

Uma hemorragia que leve à perda de volume intravascular é uma causa de hipovolémia absoluta. Um estado relativo de hipovolémia pode ser causado por vasodilatação tal como pode ocorrer em episódios de anafilaxias, com o uso de medicação vasodilatadora ou em queimaduras graves, levando a síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e aumento da permeabilidade microvascular (Figura 3) (Al Khafaji & Webb, 2004).

Hipovolémia absoluta	Hipovolémia relativa
<ul style="list-style-type: none">• Hemorragia• Trauma• Cirurgia	<ul style="list-style-type: none">• Permeabilidade capilar• Inflamação• Queimaduras• Trauma• Anafilaxia
<ul style="list-style-type: none">• Queimaduras	<ul style="list-style-type: none">• Efusão• Efusão pleural• Ascite
<ul style="list-style-type: none">• Vômito	<ul style="list-style-type: none">• Vasodilatação• Inflamação• Anafilaxia• Cirurgia• Anestesia
<ul style="list-style-type: none">• Diarreia	
<ul style="list-style-type: none">• Poliúria	
<ul style="list-style-type: none">• Evaporação• Cirurgia• Transpiração	

Figura 3. Causas de hipovolémia absoluta e relativa (Adaptado de Al-Khafaji & Webb, 2004).

As principais causas do choque hipovolémico são a perda de sangue por hemorragia, sobretudo devido a situações de trauma e neoplasias, estando o primeiro associado a rupturas esplênicas, hepáticas ou hemorragia de ossos

longos e o segundo associado a hemangiossarcomas esplênicos ou hepáticos, com formação de hemoperitoneu (Mathews, 2006).

A figura 4 demonstra as principais causas do choque hipovolémico.

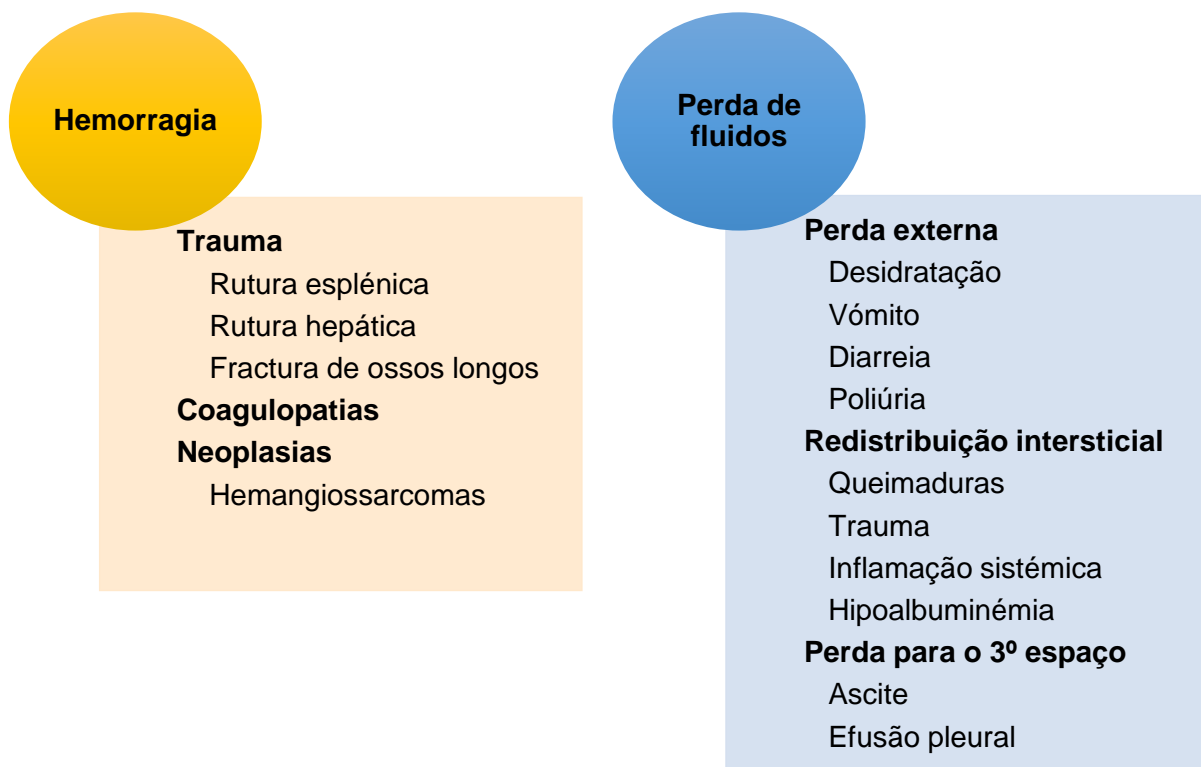


Figura 4. Causas de choque hipovolémico (Adaptado de Mathews, 2006).

2.1.2. SÍNAIS CLÍNICOS

A resposta à hipoperfusão inclui taquicardia, alterações na coloração das membranas mucosas (MM), no tempo de repleção capilar (TRC) e na intensidade do pulso. Os cães têm tendência a seguir um padrão típico de agravamento da hipovolémia, que se inicia em alterações compensatórias, tal como TRC reduzido e pulso diminuído, e termina em descompensação, como TRC ausente, MM pálidas e pulso femoral dificilmente perceptível (Al-Khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Adamantos, 2008; Boag, 2011; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

Na figura 5 podemos observar os sinais de hipoperfusão mais comuns em cães adultos.

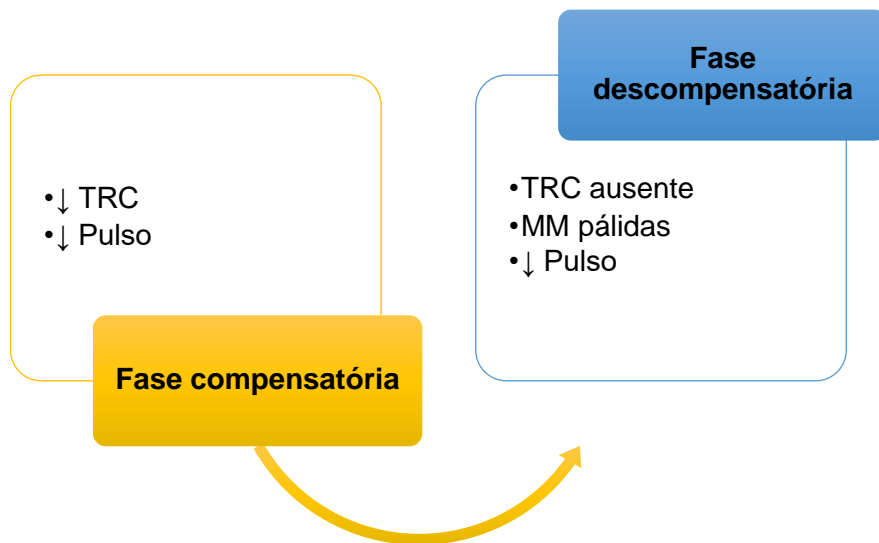


Figura 5. Sinais de hipoperfusão (Adaptado de Al-khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Adamantos, 2008; Boag, 2011; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

A apresentação clínica do paciente com choque hipovolémico é variável, dependendo do volume circulante perdido. Podemos observar pacientes cuja temperatura varia de normal a hipotermia grave, o pulso varia de hiperdinâmico a ausente, a pressão arterial média de normal a diminuída, o TRC de curto a prolongado e a cor das mucosas de rosadas a pálidas. Outras alterações que podem ser observadas são a diminuição do débito urinário, a taquipneia e a alteração do estado mental (Boag & Hughes, 2005).

No choque hipovolémico inicial ou compensado, os parâmetros clínicos tendem a alterar-se de uma forma relativamente previsível e fornecem um instrumento útil de avaliação da perfusão sistémica do animal (Quadro 2). Nesta fase, a taquicardia e o TRC diminuído são sinais precoces. As MM apresentam-se rosadas a hiperémicas e o estado mental varia de alerta a deprimido, o pulso é hiperdinâmico e a pressão arterial pode ser normal ou próxima do normal durante a fase compensatória inicial (Boag & Hughes, 2005).

Quadro 2. Parâmetros do exame clínico relacionados com as diferentes fases de hipovolémia (Adaptado de Boag & Hughes, 2005).

Parâmetro Clínico	Hipovolémia ligeira	Hipovolémia moderada	Hipovolémia grave
Frequência Cardíaca	130-150 bpm	150-170 bpm	170-220 bpm
Temperatura corporal	Normal a diminuída	Diminuída	Diminuída
MM	Normal a hiperémica	Pálida	Cinza ou branca
TRC	Rápido (<1 seg.)	Normal (1,5 seg.)	Prolongado (> 2 seg.) ou ausente
Amplitude do Pulso	Aumentada	Ligeira a moderadamente diminuída	Gravemente diminuída
Duração do pulso	Ligeiramente diminuído	Moderadamente reduzido	Gravemente diminuído

À medida que a hipovolémia progride, os mecanismos compensatórios não são suficientes e o animal desenvolve choque hipovolémico descompensado, no qual a perfusão tecidual fica gravemente comprometida. Os pacientes apresentam taquicardia grave (150-170 bpm em cães), a auscultação cardíaca pode revelar hipofonose devido à diminuição do volume sanguíneo, as MM ficam pálidas, o TRC está prolongado ou ausente, o pulso é fraco e o débito cardíaco diminui quando de frequências cardíacas superiores a 180 bpm (Brauner, 2002; Boag & Hughes, 2005). Por fim, pode ser observado bradicardia, estado mental comatoso, hipotensão grave, membranas mucosas cianóticas, hipotermia grave, pulso e TRC ausentes (Boag & Hughes, 2005).

Em comparação, os gatos apresentam uma tríade de choque diferente do que acontece em cães, observa-se bradicardia em vez de taquicardia: hipotensão, bradicardia e hipotermia. Devido à diminuição da frequência cardíaca, ocorre má perfusão dos tecidos principalmente a nível periférico, o que contribui para que ocorra hipotermia (Kirby, 2001). A hipotermia pode ter um

efeito protetor em situações de trauma, choque hipovolémico e de cirurgias cardiotorácicas, uma vez que protege o cérebro e o coração até que o volume sanguíneo seja repostado (Deborah & Hopper, 2009). Contudo, a hipotermia também pode ter efeitos deletérios para o animal. Abaixo dos 34°C os mecanismos de termorregulação diminuem, o animal deixa de tremer ou de procurar calor e ocorre vasoconstrição periférica. Diminui a produção de calor, pois em situações de doenças metabólicas severas o organismo, como mecanismo de defesa desencadeia uma hipotermia que diminui o gasto de energia e consumo de oxigénio, conservando assim alguma energia durante um período de défice, diminuindo assim a responsividade dos mecanismos de choque como a libertação de catecolaminas (Kirby, 2001).

À medida que a hipotermia agrava, ocorre depressão do sistema nervoso central e este deixa gradualmente de dar resposta através dos mecanismos compensatórios. Abaixo dos 31°C a termorregulação deixa de ocorrer por completo. Devido à hipotermia há uma diminuição da resposta dos recetores α 1-adrenérgicos. A afinidade da norepinefrina com os recetores α 1-adrenérgicos depende da temperatura pelo que, quando esta diminui, também diminui a capacidade contráctil dos vasos. Deste modo, em vez de ocorrer a vasoconstrição em compensação à hipotermia, ocorre vasodilatação que em conjunto com a bradicardia causa hipotensão (Kirby, 2001).

2.1.3. AVALIAÇÃO DA HIPOPERFUSÃO

A avaliação inicial da hipoperfusão envolve o exame físico suplementado pela medição de parâmetros hemodinâmicos e metabólicos. Inicialmente, um exame físico com foco nos sistemas respiratório, cardiovascular e neurológico é a melhor maneira de avaliar pacientes de cuidados intensivos em Medicina Humana e Veterinária, a fim de detetar a presença de qualquer grau de hipoperfusão (Boag & Hughes 2005).

Na Medicina Veterinária a avaliação da frequência cardíaca (FC), a cor das MM, o TRC, a amplitude e duração de pulso nos membros proximais e distais e o ritmo cardíaco (RC) são essenciais numa primeira abordagem ao paciente com potencial hipoperfusão. Numa avaliação mais precisa é também avaliado o preenchimento venoso periférico, a presença ou a ausência do pulso jugular, o

batimento do ápice, a temperatura corporal e a temperatura das extremidades (Boag & Hughes, 2005).

Os principais parâmetros do exame físico na avaliação da perfusão são o RC, a qualidade de pulso arterial (artéria femoral), a coloração das MM, o TRC, o estado mental e a temperatura das extremidades (Al -Khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Adamantos, 2008; Pachtinger & Drobatz, 2008; Boag, 2011; Jasani, 2011; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O aumento da FC pode ser visto como um indicador precoce da perda de volume, o aumento da taxa cardíaca tenta aumentar o DC, em cães, independentemente do seu tamanho, o aumento da taxa cardíaca é uniforme. Enquanto que em gatos hipovolémicos, geralmente apresentam taxas cardíacas mais lentas que o normal (Boag, 2011).

Na qualidade do pulso (plenitude ou largura), a vasoconstrição e o pequeno volume de traçado levam a uma pouca qualidade de pulso (Boag, 2011).

Nas MM, devido à vasoconstrição grave, a percentagem de hemoglobina e oxigénio nas mucosas é reduzida, provocando uma alteração da cor das mucosas (pálidas ou brancas) (Boag, 2011).

O TRC é uma medida do tónus vasomotor periférico (Boag, 2011).

Relativamente ao estado mental, o cérebro possui uma alta taxa metabólica e reduzidas reservas de energia, assim sendo o estado mental do animal depende do suprimento constante de oxigénio e glicose (Boag, 2011).

Relativamente à temperatura das extremidades devido à vasoconstrição, o fluxo sanguíneo para as extremidades diminui, diminuindo assim a temperatura (Boag, 2011).

Na figura 6 estão descritos os parâmetros de perfusão normais em cães e gatos.



Parâmetros clínicos em cães

Temperatura (°C): 38.3 - 38.7

RC (bpm): 120 - 140

TRC (s): 1 - 2

MM: Rosa



Parâmetros clínicos em gatos

Temperatura (°C): 38.0 - 38.5

RC (bpm): 110 - 180

TRC (s): 1 - 2

MM: Rosa

Figura 6. Parâmetros clínicos de perfusão normais em cães e gatos (Adaptado de Boag, 2011).

Em animais hipovolêmicos, os parâmetros de perfusão mencionados são indicadores fiáveis de volémia e tendem a evoluir à medida que a hipovolémia progride, desde a fase compensatória, passando pela fase descompensatória inicial e tardia, até que a perfusão normal seja restaurada (Hughes, 2006; Pachtinger & Drobotz, 2008; Jasani, 2011; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O quadro 3 apresenta as alterações dos parâmetros de perfusão, detetáveis em diferentes graus de hipovolémia em cães.

Quadro 3. Alterações dos parâmetros de perfusão, detetáveis em diferentes graus de hipovolémia em cães (Adaptado de Aldridge & O'Dwyer, 2013).

Parâmetro clínico	Estado normal	Hipovolémia moderada	Hipovolémia severa
Temperatura	Normal	Baixa	Muito baixa
RC (bpm)	120 – 140	140 – 170	170 – 220
Pulso periférico	Facilmente palpável	Difícilmente palpável	Não palpável
Amplitude de pulso	Aumentada	Diminuída	Muito diminuída
Duração de pulso	Ligeiramente reduzido	Reduzido	Muito reduzido
TRC (s)	Rápido (<1)	Normal (1 – 2)	Lento ou indetetável
MM	Rosadas	Pálidas	Branças
Estado mental	Normal	Deprimido	Muito deprimido

Em gatos, existe um número considerável de diferenças, no que diz respeito à avaliação da perfusão e hipovolémia (Quadro 4) (Boag, 2011; Jasani, 2011).

Quadro 4. Parâmetros clínicos em gatos hipovolémicos (Adaptado de Boag, 2011; Jasani, 2011).

Parâmetro clínico	Gato hipovolémico
Temperatura	Hipotermia
RC (bpm)	Bradycardia (<160)
Pulso	Fraco ou ausente
TRC (s)	Lento (>2) ou indetetável
MM	Pálidas
Estado mental	Deprimido

Animais hipovolêmicos podem ter outras condições concomitantes que impedem a alteração dos seus parâmetros de perfusão no sentido previsível descrito anteriormente. Quando avaliamos o estado de perfusão de um paciente é importante adotar uma abordagem mais global, prestando atenção a todas as alterações nos parâmetros de perfusão e correlacionando-as no contexto do paciente em questão (Boag, 2011; Jasani, 2011).

Adicionalmente ao exame físico, devem ser feitas outras medições de perfusão, se disponíveis, nomeadamente a medição da pressão sanguínea, da concentração de lactato venoso e do débito urinário. Mais uma vez, estes achados devem ser interpretados no contexto dos parâmetros do exame físico feito ao animal (Boag, 2011; Jasani, 2011).

Como variáveis mais objetivas para avaliar a perfusão temos a pressão sanguínea arterial, a produção de urina e a concentração de lactato no sangue. Em último caso, pode ser feita a colocação de um cateter arterial pulmonar e realizar a medição ou cálculo do DC, da resistência vascular periférica, da pressão arterial direita, da saturação venosa central, do aporte total de oxigénio e do consumo total de oxigénio. No entanto, estas técnicas não são executadas na maioria dos CAMV (Al-Khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Pachtinger & Drobatz, 2008; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

2.1.4. FISILOGIA DA HIPOPERFUSÃO/REPERFUSÃO

Como referido inicialmente, todas as células do corpo requerem sangue oxigenado para a sua sobrevivência. Uma perfusão adequada é crucial para a manutenção da homeostasia das células (Beeb & Funk, 2001; Aehlert, 2011), e a hipoperfusão provoca um desequilíbrio na homeostasia das células.

Em termos fisiológicos, a consequência mais devastadora da hipoperfusão é a diminuição absoluta ou relativa da pré-carga cardíaca, o que resulta num baixo débito cardíaco, numa perfusão tecidual inadequada e na diminuição do aporte de oxigénio aos tecidos (Figura 7) (Pachtinger & Drobatz, 2008; Mazzaferro, 2013).

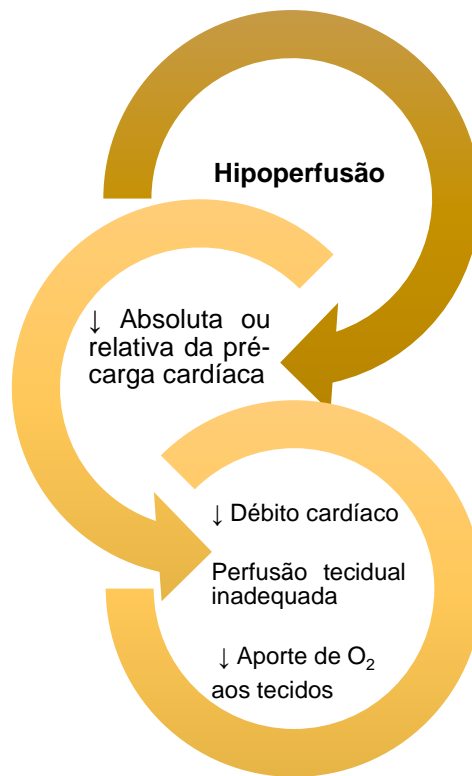


Figura 7. Consequências e resultados da hipoperfusão (Adaptado de Pachtinger & Drobotz, 2008).

Uma diminuição do aporte de oxigénio resulta num comprometimento da função celular, sendo que a distribuição de oxigénio varia com o débito cardíaco e com o conteúdo de oxigénio a nível arterial (Pachtinger & Drobotz, 2008; Mazzaferro, 2013).

O débito cardíaco depende do ritmo cardíaco e do volume sistólico, que é o volume de sangue que o ventrículo esquerdo liberta num batimento cardíaco. O volume sistólico, por sua vez, é afetado pela pré e pós-carga cardíaca e pela contratilidade miocárdica (Figura 8) (Pachtinger & Drobotz, 2008; Mazzaferro, 2013).

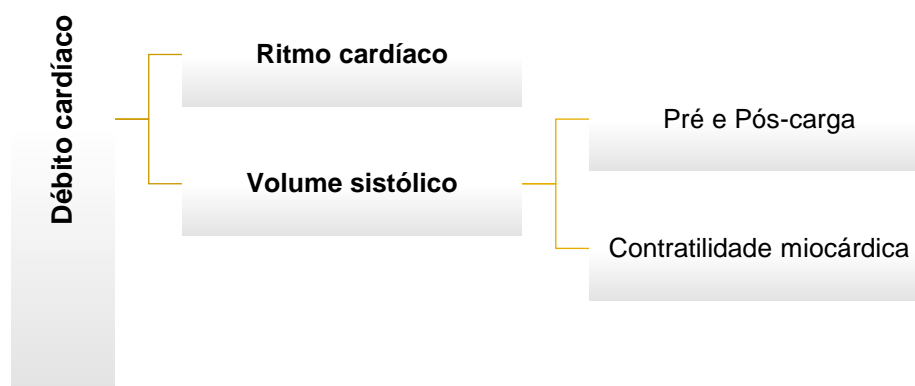


Figura 8. Fatores determinantes do débito cardíaco (Adaptado de Pachtinger & Drobotz, 2008).

O choque ocorre secundariamente a uma falha cardiovascular, quer por uma situação de hipovolémia, quer por uma disfunção cardíaca ou por má distribuição do fluxo sanguíneo, o que conduz à hipotensão e hipoperfusão dos tecidos (Boag & Hughes, 2005; King & Boag, 2007; De Laforcade & Silverstein, 2009).

Durante o choque hipovolémico, a perda de volume de sangue circulatório varia entre os 15 e os 80%. Quando a perda excede os 40% observa-se hipotensão. O estado de hidratação anterior à lesão, a severidade e o tipo de lesão, a coagulação e os esforços de ressuscitação com fluidos, determinam a quantidade de sangue perdido após o trauma. A gravidade do choque é determinada principalmente pela duração e severidade da perda de volume circulante (Groeneveld, 2013).

A fisiopatologia do choque envolve múltiplos fatores inter-relacionados, incluindo isquémia celular, mediadores inflamatórios, circulatórios ou locais, e radicais livres de oxigénio (Sethi *et al.*, 2003).

Uma vez que a hipovolémia resulta numa diminuição da pré-carga cardíaca e em pressões de enchimento baixas, o débito cardíaco diminuí, com consequente diminuição da pressão vascular (Mosier, 2012).

Os barorreceptores das artérias carótidas e da aorta detetam a diminuição do débito cardíaco e é transmitido um sinal neuronal ao centro vasomotor da medula oblongada. Em resposta, existe um aumento da atividade do sistema nervoso simpático, aumento da concentração sanguínea de catecolaminas tais como a epinefrina e a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), em que, a libertação de renina pelas células renais ativa a angiotensina, precursora da angiotensina II, a qual atua ao nível da glândula adrenal no sentido de aumentar a secreção de aldosterona a partir da zona glomerulosa do córtex adrenal (Ross *et al.*, 2002; Carcilho *et al.*, 2007).

A aldosterona atua ao nível do ducto coletor do rim no sentido de aumentar a absorção de cloreto de sódio e água. A angiotensina II é também um potente vasoconstritor, especialmente ao nível do intestino, aumentando a pressão sanguínea. Outra das suas funções é facilitar a libertação de norepinefrina pela medula adrenal e pelas terminações nervosas simpáticas, que vai determinar um aumento da frequência e da contratilidade cardíaca, vasoconstrição e diminuição da perfusão sanguínea do aparelho digestivo, dos

músculos e da pele, de modo a manter a perfusão sanguínea cerebral e cardíaca (Ross *et al.*,2002; Carcilho *et al.*, 2007).

Em conjunto, estes mecanismos atuam de forma a melhorar a pressão arterial sanguínea, a perfusão tecidual, a performance cardíaca e o retorno venoso máximo (Ross *et al.*,2002; Carcilho *et al.*, 2007).

No quadro 5 encontra-se a explicação dos mecanismos compensatórios fisiológicos.

Quadro 5. Mecanismos compensatórios fisiológicas (adaptado de Carcilho et al., 2007).

	Diminuição da capacitância venosa (via vasoconstrição)
	Aumento do tónus simpático
	Libertação de epinefrina a partir da medula adrenal
	Aumento da libertação de angiotensina II (ativação do SRAA).
Manutenção do volume sanguíneo efetivo	Aumento da libertação de arginina-vasopressina
	Diminuição da perda renal de fluidos
	Diminuição da taxa de filtração glomerular
	Aumento da libertação de Aldosterona (ativação do SRAA).
	Aumento da libertação de vasopressina da glândula pituitária posterior
	Redistribuição de fluidos para o espaço vascular:
	Efeito de starling (redistribuição de fluido a partir do espaço intersticial)
	Efeito osmótico (redistribuição de fluidos a partir do espaço intracelular)

Maximização da performance cardíaca

- Aumento da frequência e contratibilidade cardíaca
- Aumento do tónus simpático
- Libertação de epinefrina da medula adrenal

Perfusão preferencial para órgãos vitais

- Auto-regulação de órgãos vitais
- Regulação extrínseca do tónus arterial

Optimização das condições para a libertação de oxigénio dos eritrócitos

- Aumento da concentração de células sanguíneas
- Acidose tecidual
- Diminuição de PaO₂ tecidual

Em casos de hipovolémia leve, em curto prazo estes mecanismos de compensação são geralmente bem-sucedidos, com o retorno à homeostase, contudo, em casos de hipovolémia grave ou prolongada em que ocorre a inibição da capacidade do coração em aumentar a produção, o choque entra em estado progressivo, que pode ser irreversível e levar à morte (Mosier, 2012).

A hipovolémia é caracterizada por um déficit de oxigênio nos tecidos – hipoperfusão. A hipoperfusão comumente leva à hipóxia celular e, em algumas situações, como no choque hemorrágico, pode causar comprometimento do metabolismo celular, devido à diminuição severa dos níveis de oxigênio disponíveis. Em caso de hipóxia, as células produzem energia usando apenas a glicólise, uma vez que os outros processos geradores de energia (ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa ou cadeia de transporte de elétrões) não decorrem sob condições anaeróbicas. Contudo, na glicólise, é produzida menos energia, quando comparada aos processos aeróbicos. Durante este processo, a célula produz piruvato e gasta nicotinamida adenina di-nucleotídeo (NAD⁺), e então descarta o piruvato e regenera NAD⁺, convertendo piruvato em lactato, com produção simultânea de iões de hidrogénio, levando à acidose metabólica (Boag & Hughes, 2005).

Na figura 9 encontra-se um esquema simplificado dos processos que envolvem a respiração anaeróbia e aeróbia.

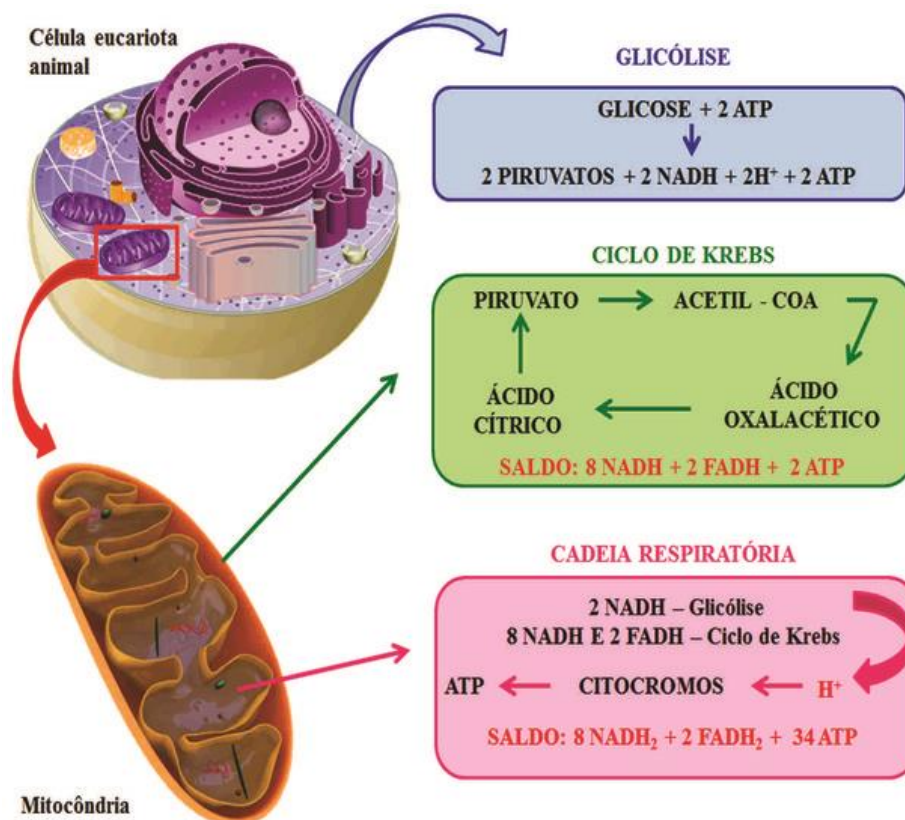


Figura 9. Esquema simplificado dos processos que envolvem a respiração anaeróbica e aeróbica (adaptado de <http://educacao.globo.com/biologia/assunto/fisiologia-celular/respiracao-celular-aerobica-e-fermentacao.html>)

A isquemia celular deve-se à hipoperfusão, com diminuição da entrega de nutrientes e oxigênio às células, com consequente diminuição de ATP. Com a continuação da hipoperfusão, a produção de energia torna-se dependente do metabolismo anaeróbico, causando acidose láctica. A acidose intracelular leva à liberação de hidrolases lisossomais que, por sua vez, provocam liberação de péptidos vasoativos, com aumento da permeabilidade capilar, edema celular com perda de fluido extracelular que entra nas células, à medida que a integridade celular é perdida (Sethi *et al.*, 2003).

Os efeitos dos mediadores inflamatórios do metabolismo celular, têm um papel fundamental na deficiência orgânica, resultam de sépsis, do choque séptico e também do choque hemorrágico associado a trauma extenso. Geralmente, são as endotoxinas de bactérias gram negativas que iniciam a cascata inflamatória. No entanto, os antígenos bacterianos e lesão celular, por si só, podem iniciar a cascata de inflamação. A produção de citocinas pelos macrófagos desempenha o papel principal no desenvolvimento e manutenção

do choque. O fator de necrose tumoral α (TNF- α) e a interleucina 1- β (IL-1 β) são propostos como os principais mediadores. Outras substâncias envolvidas neste processo incluem a interleucina 2 (IL-2), interleucina 6 (IL-6), o interferon α , a endotelina-1, os leucotrienos, os tromboxanos, as prostaglandinas e os fragmentos de complemento C3a e C5a. Dois outros mediadores importantes são o fator depressor do miocárdio e óxido nítrico (ON), sobretudo no choque séptico (Aldrich, 1991; Ross *et al.*, Sethi *et al.*, 2003). Outro mecanismo pelo qual as células e os órgãos sofrem lesão são os radicais livres de oxigênio (RLO) induzido pela reperfusão ou pela atividade neutrofílica (Sethi *et al.*, 2003).

Na presença de hipóxia ocorrem alterações fisiológicas múltiplas, as quais afetam a função e a resistência celular até à lesão permanente (Ross *et al.*, 2002).

Os níveis de cálcio intracelular aumentam após hipóxia, devido ao aumento da permeabilidade dos canais de cálcio e ativam a fosfolipase, com subsequente liberação de ácidos gordos livres pela célula e membranas de organelas. Estes processos vão ativar a cascata do ácido araquidônico e o influxo de cálcio ativa também a liberação de proteases endógenas celulares que facilitam a conversão de xantina desidrogenase (XD) em xantina oxidase (XO) (Ross *et al.*, 2002).

Quando o oxigênio entra novamente neste sistema de baixo fluxo, aquando da reperfusão, a hipoxantina é oxidada pela XO em RLO, nomeadamente aniões radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e aniões hidroxil. Este fenómeno é denominado de lesão de reperfusão, uma vez que pode danificar as organelas membranares, desnaturar proteínas e desintegrar cromossomas (Ross *et al.*, 2002).

As células endoteliais lesionadas promovem a ativação da cascata de coagulação, dando origem a um estado pró trombótico, com o início de coagulação intravascular disseminada (CID) (Ross *et al.*, 2002).

A reperfusão de vários órgãos após um episódio transitório de isquémia, resulta na lesão de reperfusão. Esta lesão limita a possibilidade de recuperação do fluxo microvascular dos tecidos e da função dos órgãos, mesmo que o débito cardíaco e a pressão arterial retornem aos valores normais. A redistribuição do fluxo sanguíneo durante a hipovolémia pode ser apenas parcialmente atenuada

pela reperfusão (Rushing & Britt, 2008; Myers *et al.*, 2012; Groeneveld, 2013; Parrillo & Dellinger, 2013).

A lesão celular no choque hipovolémico pode ser irreversível e culminar com apoptose celular ou necrose. A apoptose celular ocorre frequentemente como um componente de lesão na hipóxia (Myers *et al.*, 2012).

Apoptose

A morte celular, definida como perda irreversível de estruturas e funções vitais da célula, ocorre por dois processos morfológicamente distintos: necrose e apoptose.

A necrose caracteriza-se pela perda da integridade da membrana plasmática quanto à sua permeabilidade. Diferentes insultos patológicos como isquemia, hipóxia, hipertermia, irradiação e metabólitos tóxicos podem levar à perda abrupta da integridade da membrana plasmática – citólise – e à alteração dos seus gradientes eletroquímicos. A libertação dos constituintes intracelulares para o meio extracelular estimula a resposta inflamatória e aumentam a lesão tecidual (Patel, 2000).

A apoptose é caracterizada pela autodigestão controlada dos constituintes celulares, devido à ativação de proteases endógenas. A ativação dessas proteases compromete a integridade do citoesqueleto, provocando um colapso da estrutura celular. Em resposta à contração do volume citoplasmático, a membrana celular forma bolhas – *blebs* – e a posição dos lípidos constituintes altera-se. Em células não lesadas, a distribuição de fosfatidilserina faz-se primariamente no folheto interno da membrana plasmática. Durante o processo de apoptose este lípido expõe-se no folheto externo da membrana (Thompson, 1999).

Este novo posicionamento da fosfatidilserina serve como sinalizador de células fagocitárias das proximidades que englobam os fragmentos celulares e completam o processo de degradação (Thompson, 1999).

Durante a apoptose ocorrem alterações características do núcleo celular, graças à ativação de endonucleases que degradam o ADN. Como resultado, o núcleo torna-se picnótico e a cromatina condensa-se nas projeções adjacentes à membrana nuclear. Por fim, o núcleo entra em colapso e fragmenta-se. Simultaneamente, as bolhas que se formaram no citoplasma separam-se da

célula em fragmentos rodeados pela membrana, contendo partes do núcleo e organelas intactas – corpos apoptóticos. Os restos celulares são fagocitados pelos macrófagos teciduais ou células adjacentes (Thompson, 1999).

Em resumo, a necrose celular é caracterizada por mudanças resultantes da falta de oxigênio, enquanto a apoptose resulta de uma sinalização intracelular que inicia a transcrição de genes específicos. A necrose celular atinge normalmente grupos de células ou órgãos inteiros, enquanto a apoptose atinge células individuais de um tipo altamente específico (Jones, 1997).

A apoptose, ao contrário da necrose, é um processo ativo de autodestruição celular, caracterizada por mudanças morfológicas, tais como a condensação da cromatina, diminuição do tamanho da célula mantendo organelas intactas e eventual fragmentação do núcleo e citoplasma para formar os corpos apoptóticos (Figura 10) (Chang *et al.*, 2002; Fu *et al.*, 1997).

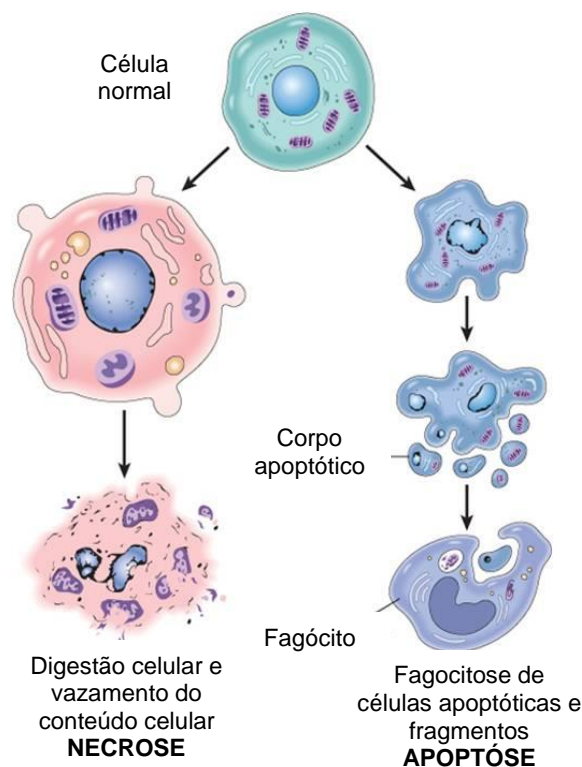


Figura 10. Diferença entre apoptose e necrose (adaptado de Grivincich *et al.*, 2007).

A apoptose, também denominada por morte celular programada, é um processo fisiológico que provoca uma série de alterações morfológicas e bioquímicas que ocorrem na célula e que conduzem à sua morte. Juntamente com os processos de proliferação, diferenciação e maturação, é responsável por

controlar a quantidade e os tipos de células produzidas, removendo as que são desnecessárias ou prejudiciais para o organismo (Marek, 2013).

A apoptose é regulada por inúmeros fatores inibidores e ativadores. Entre os inibidores encontram-se algumas proteínas da família de *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) e da família de das proteínas da apoptose (IAP). Entre os ativadores estão o Fas ou *cluster of differentiation 95* (CD95), os recetores de morte 4 (DR4) e 5 /DR5), o interferão-gama (INF- γ) e outras proteínas membros da família Bcl-2. O sistema Fas-FasL é constituído pelo recetor Fas e o seu ligando (FasL), ambos da família do fator de necrose tumoral (FNT) (Bergantini *et al.*, 2005).

Em relação ao mecanismo da apoptose, são identificadas duas vias apoptóticas clássicas principais, a via extrínseca, desencadeada pela agregação de "recetores de morte" e a via intrínseca, ou mitocondrial, que responde a sinais de stresse, tais como as radiações, provocando a libertação de sinais intracelulares que promovem a morte celular (Figura 11) (Yuan *et al.*, 2011).

As enzimas mais importantes, envolvidas na apoptose, são as caspases, que hidrolisam as proteínas estruturais e funcionais, conduzindo à morte celular. As caspases são sintetizadas na célula como zimogénios inativos, que têm que ser ativados, para desempenharem as suas funções (Marek, 2013).

A apoptose pode ser desencadeada por estímulos externos, devidos à interação dos recetores de membrana com os seus ligandos ou pelo stresse intracelular. Esta última via é dependente das mitocôndrias. Ambas as vias culminam com a ativação de proteases, conhecidas como caspases executoras (Bergantini *et al.*, 2005).

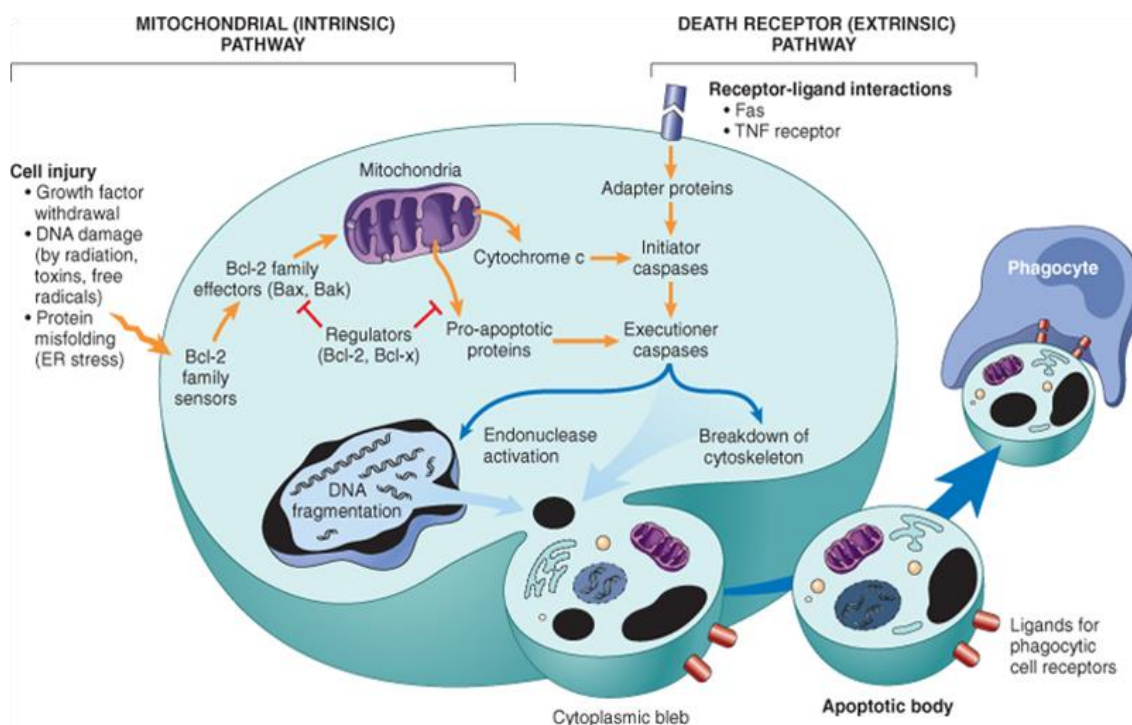


Figura 11. Vias de ocorrência da apoptose (adaptado de Elsevier. Kumar et al: Robbins Basic Pathology 8e - <http://www.studentconsult.com/>)

Via intrínseca

A via apoptótica intrínseca (Figura 12), também denominada por via mitocondrial, pode responder a vários estímulos externos, tais como alterações no DNA, radiações e stresse osmótico. A ativação desta via resulta na libertação do citocromo C do espaço intermembranar mitocondrial para o citosol (Yuan *et al.*, 2012).

O *apoptotic protease activating factor-1* (Apaf-1), a pró-caspase 9 e o citocromo C vão formar um complexo no citosol, denominado por apoptossoma. A ligação do Apaf-1 e do citocromo C à pró-caspase 9, leva à sua auto clivagem. A caspase-9 ativa cliva e ativa a caspase-3 que, por sua vez, induz a clivagem de substratos adicionais, tais como a *Poly (ADP-ribose) polymerase* (PARP) e proteína cinase C-delta. A PARP é uma enzima nuclear que catalisa a transferência da produção adenina difosfato (ADP)-ribose da nicotinamida adenina dinucleótido (NAD+) para um subconjunto específico de substratos nucleares, em resposta às alterações do ADN (Yuan *et al.*, 2012).

Ao nível molecular, a apoptose é levada a cabo pelo apoptossoma. Na via intrínseca, as células são induzidas a sofrer apoptose por alterações do ADN

e pelo stress do retículo endoplasmático. A cascata subsequente, regulada pelas proteínas da família Bcl-2, leva à despolarização mitocondrial, à liberação do citocromo C e à ativação de caspases a jusante (Dunkle & He, 2011).

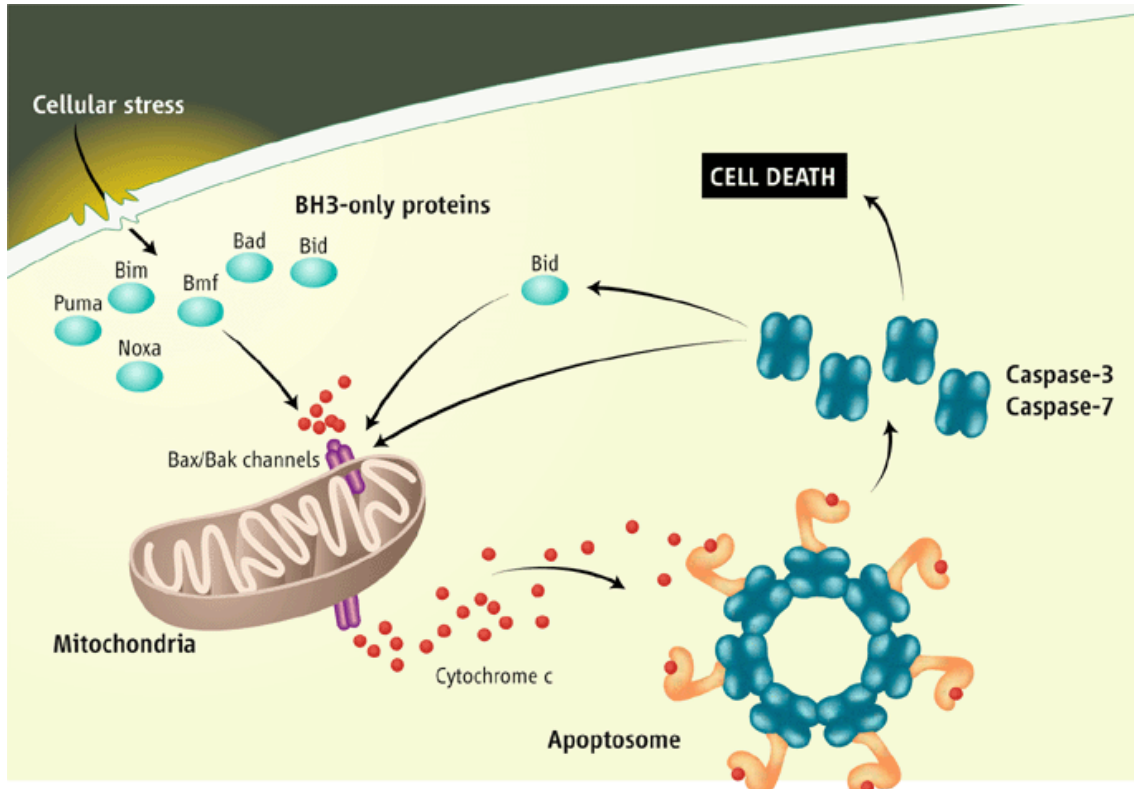


Figura 12. Via intrínseca da apoptose (Adaptado de <http://www.creces.cl/Contenido?art=2113>).

A proteína Bcl-2 controla a via intrínseca da apoptose. Os membros da família Bcl-2 podem ser pró-apoptóticos ou anti-apoptóticos. Os pró-apoptóticos podem ser divididos em grupos com um ou vários domínios. Os multidomínios da família Bcl-2, *Bcl-2 homologous antagonist killer* (Bak) e *Bcl-2-associated X protein* (Bax) podem oligomerizar para formar poros na membrana mitocondrial, sendo necessários para a apoptose por meio da via intrínseca (Dunkle & He, 2011).

As proteínas *Bcl-2 homology region 3* (BH3), como *Bcl-2-interacting mediator of cell death* (Bim), *Bcl-2-associated death promoter* (Bad), *BH3 interacting domain death agonist* (Bid), Noxa e *p53-upregulated modulator of apoptosis* (Puma), compartilham apenas um domínio BH com a Bcl-2 e são as iniciadoras da via apoptótica. Elas são capazes de responder a estímulos e também de iniciar a apoptose através de interações com outros membros da família Bcl-2 (Dunkle & He, 2011).

Durante a homeostasia celular, as proteínas Bax (pró-apoptótica) e Bcl-2 (anti-apoptótica) encontram-se em equilíbrio. São capazes de formar homodímeros (Bax-Bax e Bcl-2-Bcl-2) e heterodímeros (Bax-Bcl-2), sendo que o equilíbrio entre homodímeros e heterodímeros é o que define o balanço pró-apoptótico e anti-apoptótico na célula (Grivicich *et al.*, 2007; Lucinda, 2009; Réssio, 2010).

Na presença de um estímulo negativo, capaz de potenciar a apoptose, estas duas proteínas vão entrar em desequilíbrio. É esta desproporção que vai decidir o destino da célula. Caso o dano celular seja irreparável, a expressão de Bax irá aumentar e a célula entrará em apoptose. A Bax, que se encontra originalmente no citoplasma da célula, desloca-se para a membrana mitocondrial externa e interage com a mitocôndria, de forma independente da interação com outras proteínas anti-apoptóticas. A mitocôndria sofre, então, um aumento da permeabilidade da sua membrana, possibilitando a libertação de moléculas pró-apoptóticas, incluindo o Citocromo C, AIF e Smac/DIABLO. Por outro lado, o aumento da expressão de Bcl-2 promove a inibição da apoptose ao impedir a libertação de Citocromo C pela mitocôndria. Isto acontece por causa da interrupção da permeabilização da sua membrana externa, devido à remoção de Bax ou porque a Bcl-2 compete pelos locais que esta proteína irá ocupar na membrana mitocondrial, o que acabará por impedir a ativação da cascata de caspases, ao interromper a libertação de fatores apoptóticos (Grivicich *et al.*, 2007; Lucinda, 2009; Réssio, 2010).

Via extrínseca

A apoptose é desencadeada, através da via extrínseca, quando os recetores específicos são ativados pelos seus ligandos. A maior parte destes ligandos de “morte” pertencem à família FNT (Yuan *et al.*, 2012),

A via extrínseca da apoptose (Figura 13) é iniciada pela ligação de um ligando da família FNT ao seu recetor, seguida pela ativação de proteínas de sinalização a jusante. Na via intrínseca, o stresse celular provoca a ativação de BH3 e a libertação do citocromo c. Ambas as vias vão ativar a caspase-3 (efetora) e promover a morte celular (Dunkle & He, 2011; Yuan *et al.*, 2012).

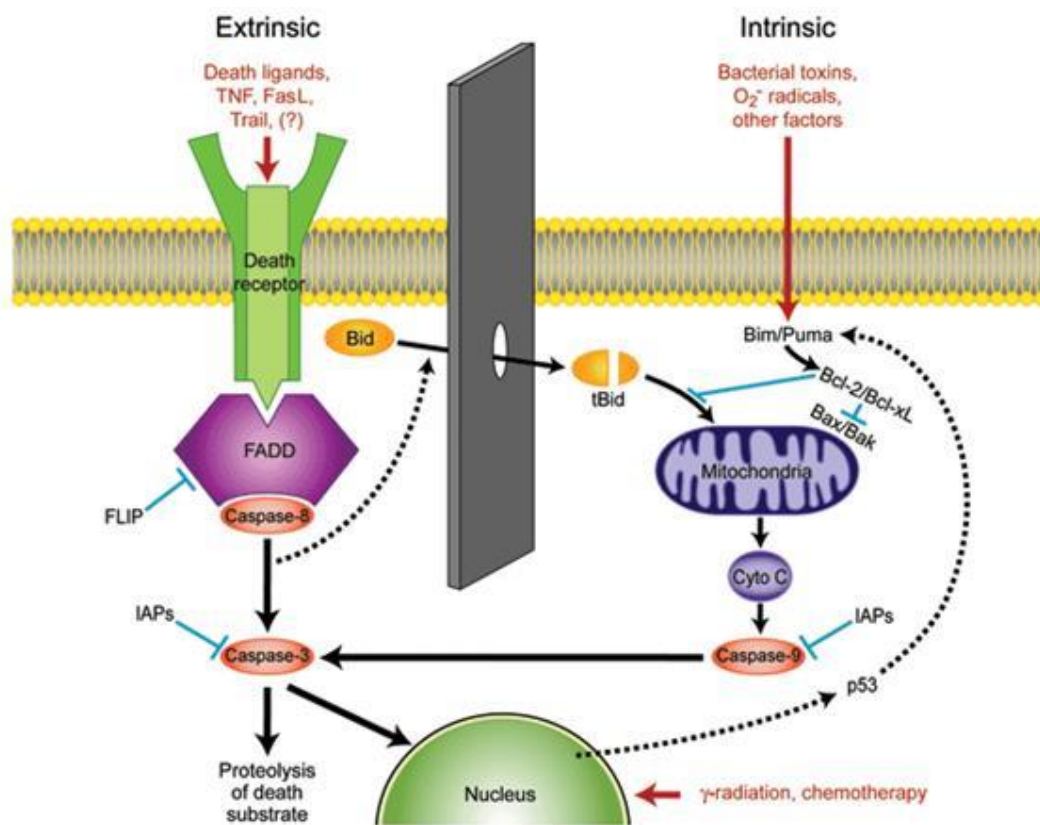


Figura 13. Via Extrínseca e Intrínseca da apoptose (Adaptado de <http://www.mdpi.com/1999-4915/4/12/3831>).

A via extrínseca da apoptose é o mecanismo pelo qual as células são sinalizadas para morrer. Os fatores que desencadeiam esse percurso são o FNT, o TRAIL (*Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*), e o FasL (Dunkle & He, 2011).

Estas moléculas podem ligar-se a recetores da superfície da célula para desencadear uma cascata apoptótica. Após a ativação dos recetores de morte, domínios da porção intracelular do recetor recrutam o domínio de morte contendo adaptadores, tais como a proteína *Fas adaptor death domain* (FADD) e o *Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein* (TRADD). O FADD liga-se à pró-caspase 8 que, em seguida, é submetida a homodimerização e auto-clivagem, para formar a caspase 8 ativa. Em seguida inicia-se a ativação de caspases a jusante, levando a célula à apoptose (Dunkle & He, 2011).

2.2. EFEITOS DA HIPOPERFUSÃO A NÍVEL INTESTINAL

2.2.1. ANATOMIA INTESTINO DELGADO

O intestino delgado (ID) dos suínos é composto por três regiões: o duodeno, o jejuno e o íleo. O ID inteiro possui cerca de 16 a 21 metros de comprimento. O duodeno possui cerca de 70 a 95 cm de comprimento, o jejuno possui cerca de 13 a 18 m de comprimento, enquanto que o íleo, possui cerca de 70 a 95 cm de comprimento (Pizzolato, 2016).

O duodeno forma um ângulo de quase 180 graus conforme se curva no interior da cavidade abdominal e o corpo do pâncreas repousa sobre esse arco. O duodeno começa com uma pequena parte superior que deixa o piloro e termina numa curvatura acentuada, onde se junta ao jejuno (Figura 15) (Pizzolato, 2016).

Cerca de dois terços abaixo da parte descendente do duodeno, são encortadas duas pequenas aberturas: a papila duodenal maior e a papila duodenal menor, onde se abrem os ductos provenientes do fígado e/ou pâncreas. O duodeno recebe o ducto colédoco e o ducto pancreático na papila maior do duodeno – papila de Vater (Pizzolato, 2016).

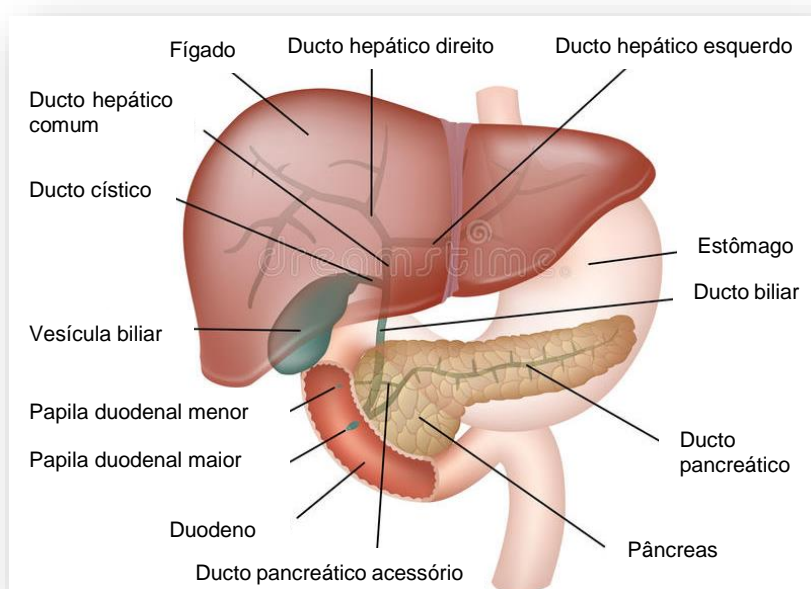


Figura 14. Estrutura anatômica do duodeno.

O jejuno e o íleo são similares ao duodeno em estrutura, contudo, a partir do duodeno em direção ao íleo, existe uma diminuição gradual no diâmetro do

intestino delgado, na quantidade de pregas circulares e na quantidade de vilosidades (Pizzolato, 2016).

O local onde o íleo se une ao intestino grosso é denominado de junção ileocecal. Esta possui um anel de músculo liso – esfíncter ileocecal – e uma válvula ileocecal de direção única, que permite que o conteúdo intestinal se mova do íleo para o intestino grosso, mas não na direção oposta (Pizzolato, 2016).

2.2.2. HISTOLOGIA DO SISTEMA DIGESTIVO – INTESTINO DELGADO

Em termos de estrutura geral do aparelho gastrointestinal, todos os componentes apresentam certas características estruturais em comum. Trata-se de um tubo oco composto pelo lúmen, cujo diâmetro é variável, circundado por uma parede formada por quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 16) (Junqueira & Carneiro, 2004).

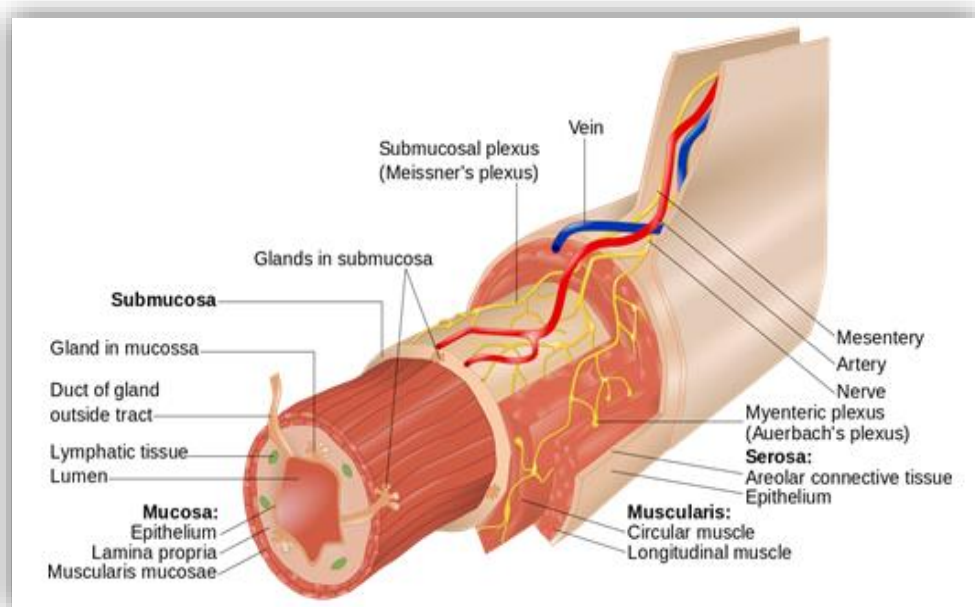


Figura 15. Estrutura geral do trato gastrointestinal.

A camada mucosa, também denominada por membrana mucosa, é composta pelo revestimento epitelial, pela lâmina própria formada por tecido conjuntivo laxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos e células musculares lisas, apresentando, por vezes glândulas e tecido linfóide, e pela muscular da mucosa, que separa a camada mucosa da submucosa (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004).

A camada submucosa é composta por tecido conjuntivo com muitos vasos sanguíneos e linfáticos e pelo plexo nervoso submucoso – plexo de Meissner. Nesta camada também é comum a existência de glândulas e tecido linfoide (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004).

A camada muscular mucosa contém células musculares lisas orientadas em espiral, divididas em duas subcamadas, de acordo com a direção principal seguida pelas células musculares. Na subcamada mais interna (próxima do lúmen), a orientação é geralmente circular; na subcamada externa, é maioritariamente longitudinal. Entre estas duas subcamadas observa-se o plexo nervoso mieotérico – plexo de Auerbach e tecido conjuntivo contendo vasos sanguíneos e linfáticos (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004).

A figura 17 demonstra as diferentes camadas abordadas.

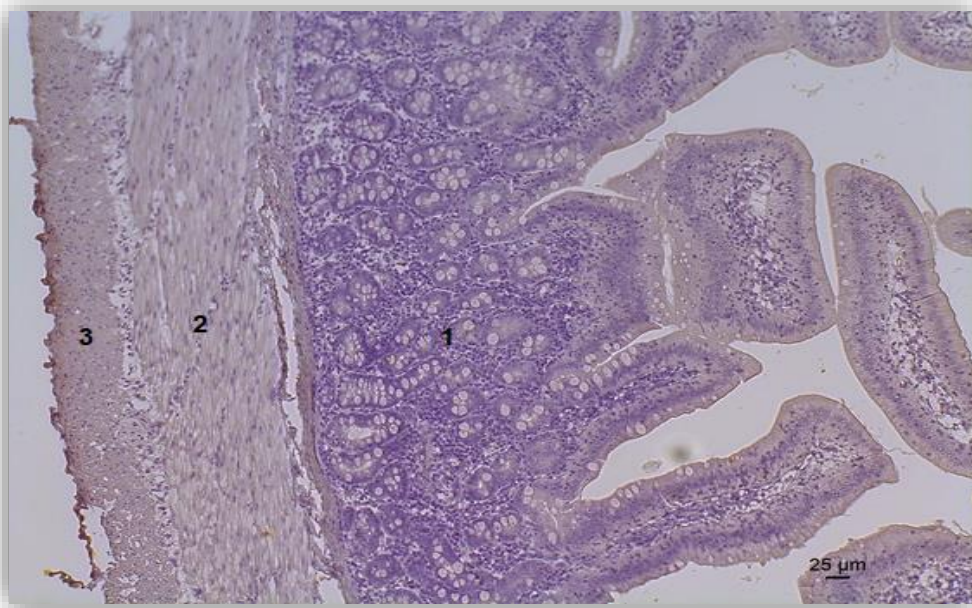


Figura 16. Duodeno (H&E; Obj 4x), são visíveis as diferentes camadas constituintes: mucosa (1) com as vilosidades e as glândulas intestinais, a submucosa (2) e a camada muscular (3).

Na figura 18 estão representados os diferentes plexos: plexo submucoso ou de Meissner (A) e o plexo mioentérico ou de Auerbach (B).

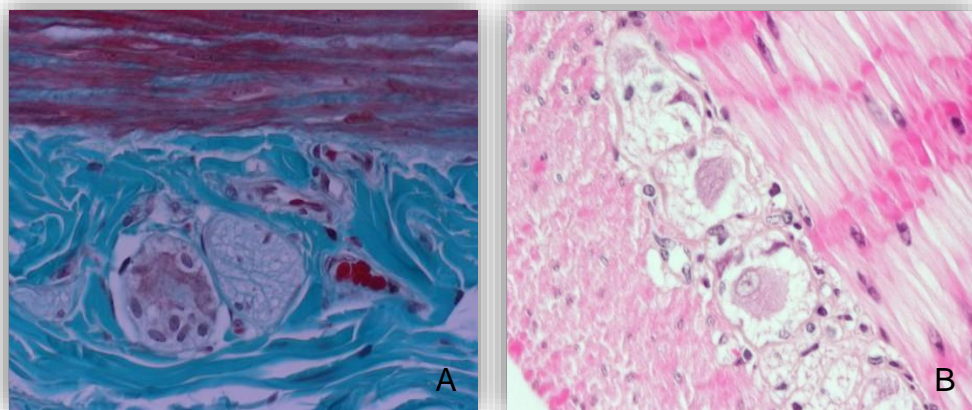


Figura 17. Estômago (Obj. 40x) Plexo submucoso ou de Meissner (A); Intestino delgado (Obj. 50 x) Plexo mientérico ou de Aurebach (B).

A serosa é uma camada delgada de tecido conjuntivo laxo, rica em vasos sanguíneos e linfáticos e tecido adiposo, revestida por um epitélio pavimentoso simples denominado mesotélio (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004).

O revestimento epitelial do sistema digestivo fornece uma barreira seletivamente permeável entre o conteúdo do lúmen e os tecidos do organismo, auxilia ainda o transporte e a digestão dos alimentos, promove a absorção dos produtos da digestão e produzem hormonas que regulam a atividade do sistema digestivo. As células caliciformes presentes nesta camada produzem muco, afim de promover a sua lubrificação e proteção (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004).

Diferenças histológicas do ID: duodeno, jejuno e íleo

No duodeno, estreitas projeções da mucosa formam as vilosidades, que possuem 0,5 a 1,5mm de comprimento. Cada vilosidade é revestida por epitélio simples cilíndrico. Grande parte das células que revestem a superfície das vilosidades possui numerosas extensões citoplasmáticas (1µm de comprimento) denominadas microvilosidades. As microvilosidades combinadas sobre toda a superfície epitelial formam a bordadura em escova (Figura 19). Estas diversas modificações aumentam a área do ID, aumentando assim a absorção (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004; Pizzolato, 2016).

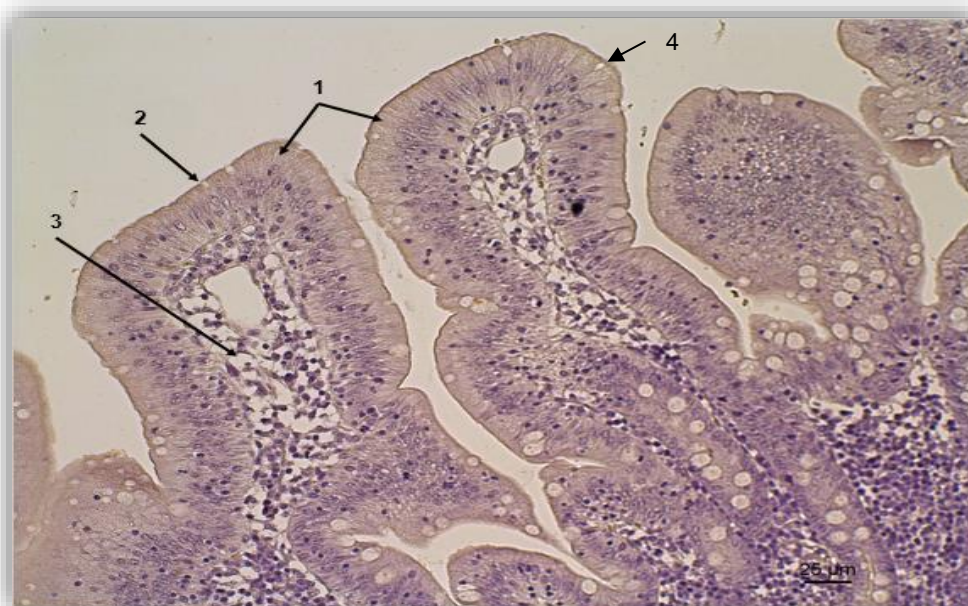


Figura 18. Duodeno (H&E, Obj. 20x), observa-se as vilosidades estas são revestidas por epitélio cilíndrico simples (1). No pólo apical das vilosidades observa-se a bordadura em escova (2). No interior das vilosidades observa-se a lâmina própria (3). Observam-se também células caliciformes (4).

Como já referido, o duodeno apresenta um epitélio cilíndrico simples constituído por quatro principais tipos celulares: células absorptivas, células caliciformes, células granulares ou células de Paneth e células endócrinas, (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004; Pizzolato, 2016).

As células epiteliais são produzidas no interior de invaginações tubulares da mucosa, chamadas glândulas intestinais, ou criptas de Lieberkühn, na base das vilosidades. As células absorptivas e caliciformes migram das glândulas intestinais até a superfície das vilosidades. As células endócrinas e granulares

permanecem na base das glândulas (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004; Pizzolato, 2016).

A submucosa do duodeno contém glândulas mucosas tubulares alveolares denominadas glândulas duodenais, ou glândulas de Brunner, que se abrem na base das glândulas intestinais (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004; Pizzolato, 2016).

Nas figuras 20 e 21 estão representadas as glândulas intestinais ou criptas de Lieberkühn e as glândulas duodenais ou de Brunner.

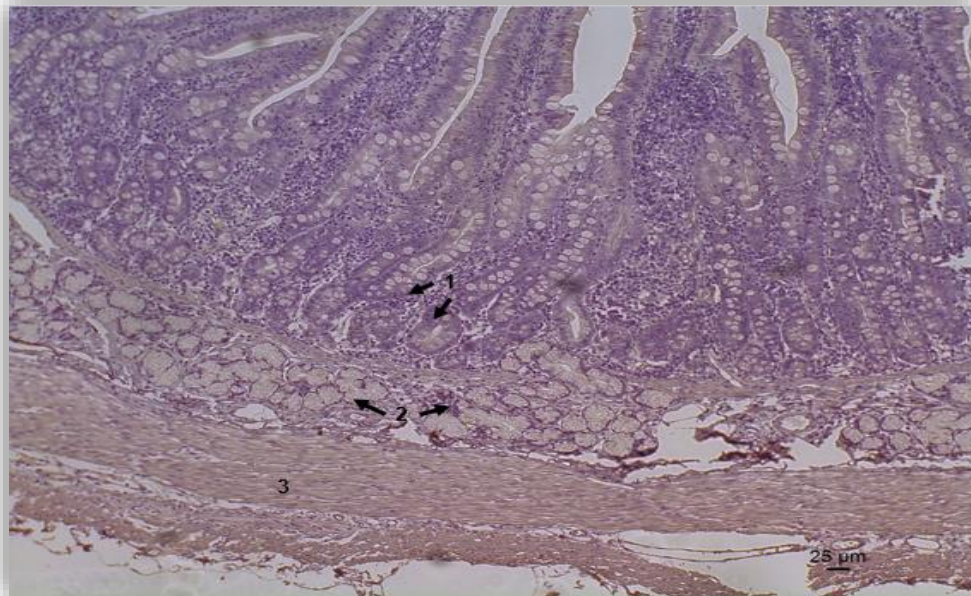


Figura 19. Duodeno (H&E, Obj. 10x) Na mucosa podem observar-se, as glândulas intestinais ou de Lieberkühn (1). Na submucosa observam-se numerosas glândulas de Brunner (2) e a camada muscular (3).

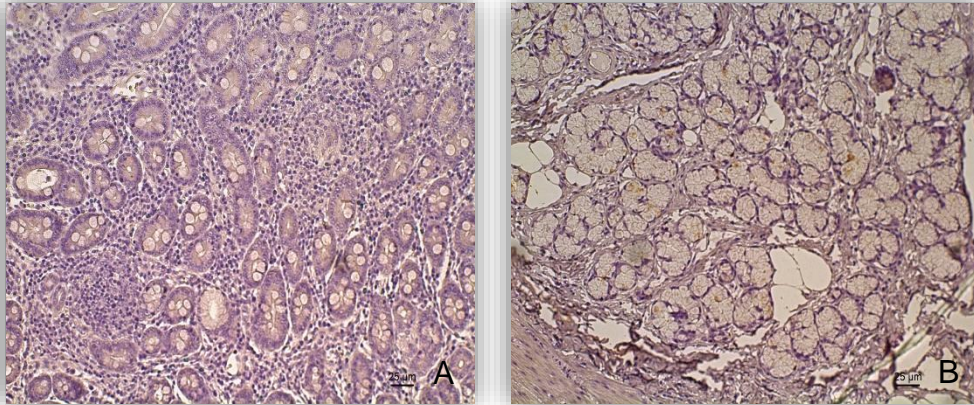


Figura 20. Glândulas intestinais ou de Lieberkuhn (H&E, Obj. 40x) (A); Glândulas de Brunner (H&E, Obj. 40x) (B).

As vilosidades intestinais são menores no jejuno em comparação com o duodeno, cerca de 1 mm de comprimento. As vilosidades vão gradualmente assumir forma de dedos à medida que se aproximam do íleo (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000).

No jejuno não se observam glândulas na submucosa nem na lâmina própria (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004; Pizzolato, 2016).

As vilosidades intestinais do íleo são relativamente menores em comparação às vilosidades do duodeno e jejuno, cerca de 0,5 mm de comprimento (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000).

Os nódulos linfáticos e as placas de Peyer (Figura 22) são muito numerosos na submucosa do íleo (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000).

Na mucosa do íleo em vez de células absortivas encontram-se células M – *microfold*, estas células são células epiteliais especializadas que recobrem os folículos linfoides das placas de *Peyer* (Burkitt *et al.*, 1993; Young & Heath, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004; Pizzolato, 2016).

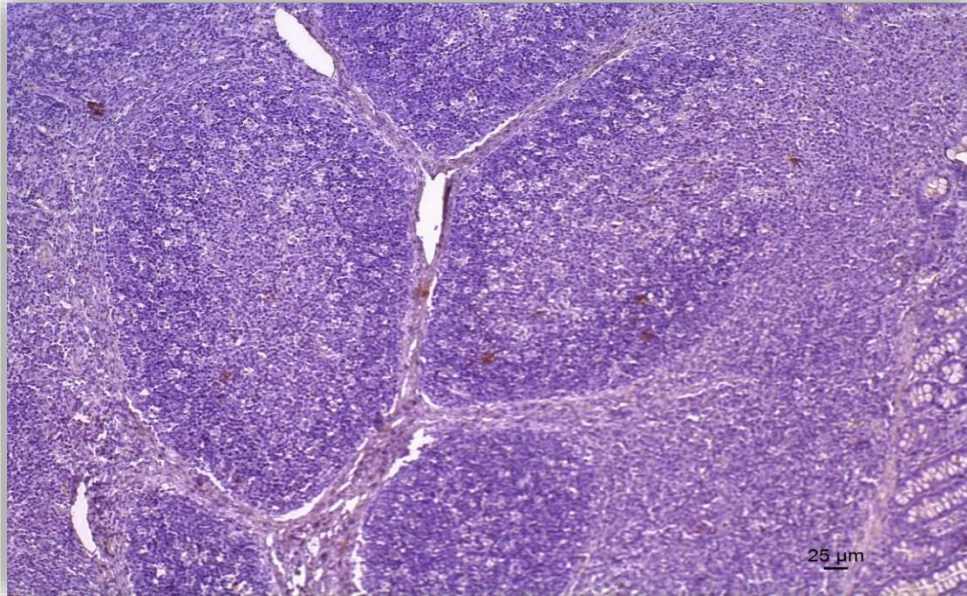


Figura 21. Placas de Peyer localizada na camada mucosa e submucosa do íleo (H&E, Obj. 40x).

2.2.3. EFEITOS DA HIPOPERFUSÃO A NÍVEL INTESTINAL

A lesão por isquemia e reperfusão está associada à perda da função da barreira intestinal, translocação bacteriana na circulação e consequente inflamação sistêmica, encontrando-se descrita em pessoas e animais (Collard & Gelman, 2001; Fink & Delude, 2005; Bilkslager *et al.*, 2007).

A isquemia é uma condição de interrupção no suprimento de oxigênio e nutrientes para uma determinada área, durante um determinado período, devido a uma deficiência de fornecimento de sangue, que como já referido pode levar à morte tecidual (Scannel *et al.*, 1995).

Recentemente, surgiram evidências de que a lesão dos tecidos não estaria somente limitada à isquemia, podendo também estender-se ou agravar com a reperfusão (Pinheiro *et al.*, 1999; Meyer *et al.*, 1999).

Parks & Granger (1986) demonstraram que três horas de isquemia seguidas por uma hora de reperfusão determinavam maior lesão na mucosa intestinal, do que quatro horas de exclusiva isquemia.

Entre os diversos órgãos, o intestino é provavelmente o mais sensível à lesão de isquemia e reperfusão (Granger *et al.*, 1986).

Nos mamíferos, a lesão de isquemia intestinal é resultante de fatores locais, como a obstrução vascular mecânica, ou de fatores sistêmicos, como a hipovolémia, ou hipotensão ou sepsis (Barie, 1999).

A mucosa intestinal é altamente dependente de energia e, caso ocorra uma redução no fluxo sanguíneo e oxigenação, pode ocorrer uma rápida formação de lesão e morte celular (Moore *et al.*, 1995).

As vilosidades intestinais possuem uma arteríola central que se ramifica próximo ao topo das mesmas, drenando para as vénulas periféricas (Dart *et al.*, 1992). Esta arquitetura vascular permite um mecanismo de troca corrente, onde o oxigênio se difunde desde a arteríola central para os tecidos e vénulas adjacentes periféricas. Quando o fluxo arterial está reduzido, as extremidades das vilosidades tornam-se progressivamente hipóxicas, resultando numa lesão epitelial. A lesão isquêmica da mucosa leva a uma descamação tempo-dependente do epitélio, desde as extremidades das vilosidades em direção às criptas (Shepherd & Granger, 2001).

O consumo de oxigênio no intestino é independente do fluxo sanguíneo, sendo que, normalmente existe um nível constante de absorção de oxigênio, o que é possível através de mudanças recíprocas compensatórias na extração de oxigênio intestinal e aumento do recrutamento capilar, sendo este um mecanismo extremamente importante na proteção contra a lesão isquêmica (Bulkley *et al.*, 1985).

Contudo, em seres humanos, sabe-se que a absorção de oxigênio intestinal torna-se dependente do fluxo. Quando o fluxo intestinal cai abaixo dos 30 ml/min/100g de tecido (Wilcox *et al.*, 1995) ou quando a pressão arterial sistêmica cai abaixo dos 50 mmHg (Bulkley *et al.*, 1985), um nível inadequado de oxigênio leva à isquemia tecidual e consequente comprometimento da função celular e morte celular (Mallick *et al.*, 2004).

Um estudo em ratos demonstrou que a maior sensibilidade dos enterócitos do topo das vilosidades à isquemia é dependente, na verdade, do seu estado de diferenciação (Hinnebusch *et al.*, 2002).

De acordo com Chiu *et al.*, (1970), as principais mudanças provocadas pela isquemia na mucosa metabolicamente ativa podem ser classificadas, com base na severidade das lesões, em Grau 0 (mucosa normal), Grau I (desenvolvimento de um espaço subepitelial – espaço de Gruenhagen –

normalmente no topo das vilosidades e presença de congestão nos capilares), Grau II (extensão do espaço subepitelial com descamação moderada da camada epitelial em relação à lâmina própria), Grau III (descamação massiva do epitélio em direção à base das vilosidades, sendo que, alguns topos das vilosidades podem estar descobertos), Grau IV (vilosidades descobertas com exposição da lâmina própria e capilares dilatados expostos, pode ser observada um aumento de células na lâmina própria) e Grau V (desintegração da lâmina própria, com presença de hemorragia e úlceras).

Durante a fase de isquemia, ocorre lesão da mucosa intestinal, há aumento da permeabilidade microvascular, perda de fluido no lúmen intestinal, liberação de hidrolases lisossômicas, aumento de proteólise e liberação de fator de depressão do miocárdio na circulação e choque circulatório, criando um ciclo vicioso, no qual essas alterações causam depressão na função cardíaca e esta, por sua vez, origina deterioração progressiva da perfusão intestinal. Essas alterações são agravadas ainda mais com a reperfusão, pois esta desencadeia a acumulação de radicais livres, que atacam e lesam as membranas celulares, atraem neutrófilos e estimulam a liberação de mediadores inflamatórios (Horton & Walker, 1993; Myers & Hernandez, 1994).

O aumento da permeabilidade capilar e a produção de radicais livres de oxigênio são as principais alterações determinantes da instabilidade hemodinâmica e subsequente mortalidade (Bitterman & Aoki, 1998).

Um dos fatores mais importantes, causadores de lesão intestinal após reperfusão é a geração de radicais livres de oxigênio, através do sistema hipoxantina-xantina oxidase (Horton & Walker, 1993; Haward *et al.*, 1993; Parks *et al.*, 1983).

A perda da barreira da mucosa intestinal permite que as bactérias e endotoxinas atinjam a cavidade abdominal, provocando um aumento do número de neutrófilos no fluido peritoneal. As lesões isquêmicas levam à necrose, a menos que o fluxo sanguíneo retorne (White, 2003).

A reperfusão do tecido intestinal danificado agrava o dano tecidual e é considerado um efector de inflamação local e distante com consequência na falência de vários órgãos, sendo uma causa comum de morte em pacientes críticos (Parks & Granger 1986; Homer-vanniasinkam *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2004; Baue, 2006; Vollmar & Menger, 2011).

A lesão de reperfusão resulta num dano celular, com afluxo de infiltrado inflamatório em ambas as camadas do intestino delgado. Os achados mais comuns na lesão da mucosa intestinal incluem: dilatação das criptas, acumulação extensa e multifocal de detritos necróticos na superfície da lâmina própria, edema, congestão e dilatação dos capilares linfáticos. Sendo que estes achados também podem ser comuns a outras desordens inflamatórias do intestino (Meschter *et al.*, 1986).

Apoptose na lesão de isquémia e reperfusão intestinal

No sistema digestivo, a apoptose pode ser associada à manutenção da homeostase, à descamação das células, desde o topo das vilosidades do intestino delgado, à patogénese da doença inflamatória intestinal e aos danos induzidos pela radiação (Sun *et al.*, 1998). Supõem-se que a apoptose tem um papel complementar e oposto à mitose na regulação das populações de células nos animais (Kerr *et al.*, 1972).

Um estudo demonstrou que equinos submetidos ao estrangulamento do intestino delgado, apresentaram grandes números de células apoptóticas, possivelmente devido à lesão de isquémia e à inflamação subsequente (Rowe *et al.*, 2003). A apoptose ocorre também como parte da função intestinal normal e, como já referido não desencadeia um processo inflamatório, contudo uma apoptose excessiva induzida experimentalmente provoca uma resposta inflamatória (Sun *et al.*, 1998).

O estímulo pré-apoptótico induz as células à apoptose. Contudo, a concentração de ATP intracelular é um fator determinante nas reações que causam apoptose. Uma diminuição dos níveis de ATP facilita a ocorrência de necrose em relação à apoptose e um aumento do ATP resultante dos substratos glicolíticos promovem o efeito oposto (Leist *et al.*, 1997).

A percentagem de fragmentação de ADN aumenta durante a isquémia e atinge o seu limite máximo após uma hora de reperfusão. A magnitude da fragmentação do ADN é diretamente proporcional à duração da lesão isquémica, com uma percentagem significativamente maior de fragmentação de ADN, após 60 minutos de isquémia, comparado a 15 minutos. Devido ao facto da fragmentação máxima ocorrer após uma hora de reperfusão, seguida de um retorno aos valores basais após seis horas, observou-se que a indução da

apoptose intestinal e a recuperação da mucosa são processos rápidos (Noda *et al.*, 1998).

Estima-se haver um aumento temporal dependente dos fatores que promovem a apoptose durante a isquémia e em fases iniciais de reperfusão, contudo, os mesmos reduzem rapidamente com a reperfusão prolongada. Também parece haver uma indução simultânea dos inibidores da apoptose, bem como dos promotores de reparação tecidual durante a fase avançada de reperfusão (Noda *et al.*, 1998).

O mecanismo exato para a indução de apoptose não é conhecido. Entretanto, estudos têm demonstrado que os RLO podem causar apoptose e o aumento da produção desses radicais é considerável durante a lesão de isquémia e reperfusão (Buttke & Sandstrom, 1994; Ratan & Baraban, 1995).

Existe uma proposta de interação entre a matriz extracelular e as células, apresentando um papel crítico na causa de apoptose. Neste caso, a morte celular ocorre quando há rompimento dos contactos (complexos juncionais), isto é, as células epiteliais atingidas perdem o seu contacto com o estroma das vilosidades, sendo este fenómeno denominado por anoiquia (Frisch & Francis, 1994).

2.3. TRATAMENTO DA HIPOPERFUSÃO

A abordagem mais eficaz do tratamento consiste em antecipar os eventos responsáveis pelo estado de perfusão inadequada. O reconhecimento precoce e a rápida intervenção são os pontos-chave para o sucesso do tratamento (DeClue, 2008).

Numa fase inicial, o objetivo do tratamento consiste em restaurar a perfusão periférica e manter uma oxigenação eficaz (Puyana, 2005; Day & Bateman, 2006).

Em fases mais avançadas, a reposição da volémia por si só é insuficiente para progredir a progressão do processo inflamatório. Manter uma correta funcionalidade orgânica e prevenir os estímulos pró inflamatórios, como o caso de hipóxia, hipotensão e infecção, são os pontos críticos no tratamento de hipoperfusão (Day & Bateman, 2006).

2.3.1. FLUIDOTERAPIA

Os principais objetivos da fluidoterapia são a reposição da perda de fluidos que ocorrem durante um procedimento cirúrgico, em caso de doença subjacente ou devido à ocorrência de eventos traumáticos, a expansão do volume circulatório, a manutenção do balanço eletrolítico e ácido-base adequado, a correção do choque, a melhoria da perfusão tecidual e o fornecimento eletrólitos, medicações e nutrição parental (Pachtinger, 2010; Liss, 2012; Donohoe, 2015; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

Em casos de hipovolémia deve ter-se em conta a localização do deficit de fluidos, a presença de alterações eletrolíticas e se a desidratação é uma componente do deficit de fluidos ou se este deficit se encontra apenas no espaço intravascular (Mazzaferro, 2013).

A fluidoterapia pretende aumentar o DC, a quantidade de oxigénio no sangue e o aporte deste para valores acima do crítico, para que a extração de oxigénio aumente de forma a responder às necessidades do organismo, pretende ainda descer os níveis de lactato no sangue e melhorar a acidose (Al-Khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Aldrich, 2009; Groeneveld, 2013).

A reposição do deficit de volume circulante assegura o retorno a um volume intravascular adequado, evitando o dano tecidual (Pachtinger & Drobotz, 2008).

2.3.1.1. FISILOGIA DA HIPOPERFUSÃO

A fluidoterapia é parte imprescindível no manejo do paciente grave e o objetivo de repor volume para obter a máxima perfusão e aumentar a sobrevivência só poderá ser alcançado se conhecermos os potenciais de troca entre os diferentes compartimentos de fluidos, as noções básicas de hemodinâmica e os tipos de fluidos (Driessen *et al.*, 2006; Hughes, 2006; Liss, 2012).

Os fluidos no organismo encontram-se tanto na célula (intracelulares), como no exterior da célula (extracelulares). Os três maiores compartimentos de fluidos são o espaço intracelular (LIC), o espaço intravascular e o espaço intersticial, sendo que estes dois últimos constituem o espaço extracelular (LEC) (Figura 23) (Driessen *et al.*, 2006; Hughes, 2006; Liss, 2012).

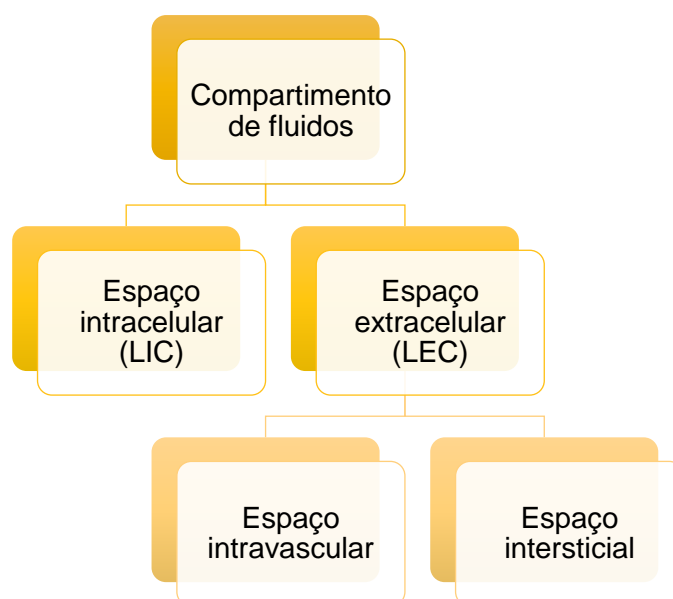


Figura 22. Esquema de compartimento de fluidos (Adaptado de Driessen *et al.*, 2006; Hughes, 2006; Liss, 2012).

O movimento de fluidos do compartimento intravascular para os compartimentos intersticial e intracelular ocorre na membrana capilar, sendo esta permeável à água e a partículas de pequeno peso molecular. O compartimento intersticial é o espaço entre os capilares e as células. O compartimento intracelular é separado do compartimento intersticial por uma

membrana celular, a qual é permeável à água e partículas de pequeno ou grande peso molecular (Figura 24) (Driessen *et al.*, 2006; Hughes, 2006; Liss, 2012).

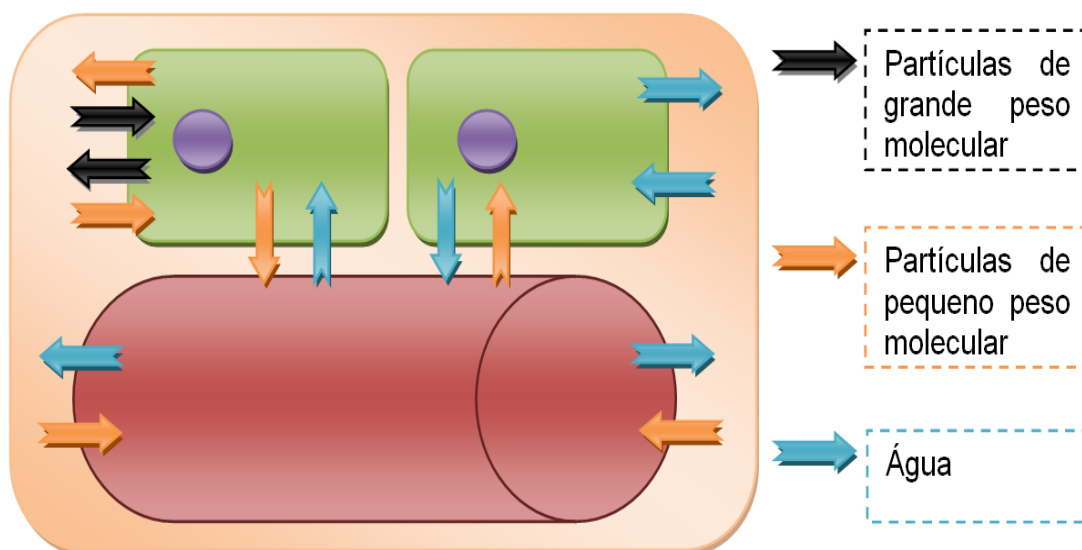


Figura 23. Esquema dos movimentos entre os compartimentos intravascular, intersticial e intracelular (Adaptado de Liss, 2012).

Esta noção é importante para entender a diferença entre a desidratação e a hipovolémia, uma vez que a desidratação refere-se à perda de fluidos intersticiais e a hipovolémia à perda de volume intravascular (Rudolff & Kirby, 2001).

A troca de fluidos entre os espaço intravascular e intersticial ocorre em áreas de microvasculatura, representada pelos capilares arteriais, venosos e as suas comunicações. A quantidade e composição de fluido que se movimentam entre estes espaços são regulados pela pressão oncótica, pressão hidrostática e permeabilidade capilar (Rudolff & Kirby, 2001).

A pressão oncótica é a força exercida pelo tamanho e número de moléculas com grande peso molecular em ambos os lados de uma membrana semipermeável, enquanto que a pressão hidrostática é a força exercida pelas moléculas de água no interior dos diferentes compartimentos (Boag, 2011; Mazzaferro, 2011; Rudloff, 2012; Mazzaferro, 2013).

Os fluidos administrados devem concentrar-se dentro do compartimento em que existe o deficit de volume. Existem dois tipos de fluidos: os cristaloides e os coloides. Os cristaloides são frequentemente usados na reposição do volume intravascular e intersticial, enquanto que, os coloides são usados na reposição do volume intravascular. Os cristaloides e os coloides podem ser usados em conjunto afim de repor deficits de fluido intersticial, devendo, nestes

casos, os cristaloides ser administrados em doses mais reduzidas, de cerca de 40 a 60% (Driessen *et al.*, 2006; Hughes, 2006; Liss, 2012).

2.3.1.2. VIAS E SISTEMAS DE ADMINISTRAÇÃO

Na administração de fluidos deve-se ter em conta a condição clínica do animal, o tipo de fluido, a rapidez e o volume necessário. As vias disponíveis para esta terapia são a via oral, a via subcutânea, a via intravenosa (IV) (periférica e central), a via intraóssea (IO) e a via intraperitoneal (DiBartola & Bateman, 2012; Donohoe, 2015).

Em casos de pacientes que apresentam hipovolémia, as vias de administrado mais indicados são as vias IV e IO.

A via IV é a via preferencial para obtenção de uma rápida expansão do volume sanguíneo (Hansen, 2012). Esta pode ser efetuada pela cateterização de veias periféricas, como a cefálica e a safena lateral, que permitem a administração de fluidos com osmolaridade inferior a 600 mOsm/L, ou pela cateterização de veias centrais, como a veia jugular que, por sua vez, permite a administração de fluidos com osmolaridade superior a 700 mOsm/L, diminuindo assim o risco de flebite ou trombose (DiBartola & Bateman, 2012; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

Relativamente ao equipamento necessário para a realização deste método incluem-se fluidos estéreis, cateteres IV, material de fixação, material de infusão e bomba infusora (DiBartola & Bateman, 2012).

A via IO é indicada em neonatos, animais jovens ou adultos, quando o acesso IV não é possível. O equipamento necessário inclui cateteres IO, agulhas espinhais ou hipodérmicas, material de infusão e o fluido. As localizações mais comuns para a colocação de cateteres IO são a fossa trocantérica, a crista tibial, a asa ilíaca e o úmero proximal (DiBartola & Bateman, 2012; Hansen, 2012; Plunkett, 2013, Donohoe, 2015).

Uma vez conseguido o acesso intravenoso ou intraósseo, tem de ser feita a escolha dos fluidos mais adequados (Pachtinger & Drobotz, 2008; Jasani, 2011).

2.3.1.3. PLANO DE FLUIDOTERAPIA

As perdas diárias normais de um animal saudável são aproximadamente 50 mL/kg. Quando se verifica a alteração do estado hídrico do animal, o volume de perdas pode aumentar significativamente e a ingestão de fluidos diminuir. Assim sendo, a fluidoterapia é o método utilizado para a reposição das perdas e/ou manutenção da hidratação normal do indivíduo. Previamente à administração de fluidos deve traçar-se o plano de fluidoterapia adequado a cada caso específico, considerando a sua percentagem de desidratação (Quadro 6) (Donohoe, 2015).

Quadro 6. Estimativa da percentagem de desidratação do animal, considerando as alterações detetadas na avaliação clínica do mesmo (Adaptado de DiBartola & Bateman, 2012; Liss, 2012; Mazzaferro & Powell, 2013; Donohoe, 2015).

Desidratação (%)	Alterações
<5%	Alteração subclínica História clínica refere a perda ou redução da ingestão de fluidos por um curto período MM rosadas Sem alteração dos sinais vitais
5%	MM secas Redução ligeira da elasticidade cutânea História clínica refere a perda ou redução da ingestão de fluidos
7%	MM secas Redução da elasticidade cutânea TRC aumentado Aumento da frequência cardíaca Frequência de pulso normal Pressão sanguínea normal Possível retração do globo ocular História clínica refere a perda de fluidos por um período prolongado Aumento do hematócrito e proteínas totais
	História clínica refere a perda de fluidos grave por um período prolongado Redução evidente da elasticidade cutânea

	MM secas
10%	TRC aumentado Taquicardia Frequência de pulso diminuída Hipotensão Retração do globo ocular Aumento do hematócrito e proteínas totais
≥12%	História clínica refere a perda de fluidos marcada (hemorragias ou queimaduras) MM secas TRC aumentado Retração do globo ocular muito evidente Taquicardia Bradycardia Frequência de pulso diminuída ou ausente Diminuição da temperatura corporal Alteração do estado mental Aumento do hematócrito e proteínas totais Morte eminente

A reposição das perdas de fluido é calculada com a seguinte fórmula:

$$\text{Volume (mL)} = \% \text{ de desidratação (numeração decimal)} \times \text{peso corporal (kg)} \times 1000$$

A esta fórmula deve-se adicionar perdas diárias normais, de manutenção, calculadas de acordo com o quadro 7.

Quadro 7. Fórmula de cálculo do volume de manutenção em cães e gatos (Adaptado de Liss, 2012; Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).

Animais com peso corporal entre 2kg-50kg

$$\text{Volume de manutenção (mL/dia)} = [\text{peso corporal (kg)} \times 30] + 70$$

Animal com peso corporal <2kg ou >50kg

$$\text{Volume de manutenção (mL/dia)} = [\text{peso corporal (kg)}]^{0,75} + 70$$

Em alternativa, considerar as seguintes estimativas

40 mL/kg/dia para os gatos adultos

60 mL/kg/dia para os cães adultos

80-120 mL/kg/dia para neonatos

120-200 mL/kg/dia para animais pediátricos.

O resultado deste somatório corresponde ao volume total necessário, por dia, para cada caso individual (Liss, 2012; Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).

Relativamente ao plano de fluidoterapia pré-anestésico e anestésico, este deve ser mantido a um nível basal de 5 a 10 mL/kg/hora ou de 10 a 15 mL/kg/hora em procedimentos cirúrgicos mais exigentes para o animal, permitindo a correção da hipovolémia, da hipotensão, da reposição das perdas de fluidos em curso e um fluxo contínuo ao longo da via, prevenindo a formação de coágulos e evitando problemas de administração em situações de urgência (Davis, 2013; Plunkett, 2013).

2.3.1.4. TIPOS DE FLUIDOS

Os fluidos encontram-se genericamente divididos em duas categorias, os cristaloides e os coloides. Os coloides podem, por sua vez, ser divididos em coloides sintéticos e naturais (Al-Khafaji & Webb, 2004; Jasani, 2011; Donohoe, 2012; Liss, 2012).

a) Cristaloides

Os cristaloides são os fluidos mais frequentemente utilizados na prática veterinária. Estes, são compostos por soluções aquosas ou cloreto de sódio, eletrólitos, como o caso de sódio, potássio, cloro ou magnésio e por tampões, como o acetato, lactato, bicarbonato ou gluconato). Os cristaloides possuem uma capacidade de difusão para todos os compartimentos de fluidos do

organismo (Pachtinger, 2010; Haskins & Macintire, 2012; Liss, 2012; Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).

A concentração de sódio dos cristaloides determina a sua tonicidade e a dinâmica dos fluidos. Como os eletrólitos se movem através do gradiente de concentração de uma área de grande concentração para uma área de menor concentração, a concentração das partículas, osmoticamente ativas num fluido cristalóide, vai influenciar a quantidade de fluido que é retida dentro do espaço intravascular, após a sua administração IV (Driessen *et al.*, 2006; Jasani, 2011; Donohoe, 2012; Mazzaferro, 2013).

As soluções tampão adicionadas aos fluidos são convertidas ou metabolizadas pelo organismo em bicarbonato. O bicarbonato é um tampão fulcral existente no organismo que ajuda a controlar o pH sanguíneo (Mazzaferro, 2013).

O sódio (Na) é o principal catião extracelular presente no organismo. A sua concentração normal é de 140 a 150 mEq/l, em cães e de 150 a 160 mEq/l, em gatos. Na maioria dos cristaloides isotónicos, o conteúdo de sódio varia de 130 a 154 mEq/l. Os fluidos usados para repor o deficit de volume intravascular e intersticial devem conter 130 a 154 mEq/l de sódio (Mazzaferro, 2013).

O cloro (Cl) é o principal anião extracelular, este pode ser perdido em situações de vômito ou diarreia. Embora o cloro seja importante, a avaliação das concentrações de sódio e de outros eletrólitos é mais importante no momento de selecionar um fluido de substituição para um estado específico (Mazzaferro, 2013).

O potássio (K) é o principal anião intracelular. Em casos de desidratação severa, hipoadrenocorticismo, acidose metabólica, cetoacidose diabética e de insuficiência renal, o potássio sérico pode encontrar-se elevado, razão pela qual se devem evitar os cristaloides, já que a maioria contém alguma forma potássio. Em casos de animais com hipercalemia é recomendado sempre que possível evitar a administração de fluidos que contenham potássio (Mazzaferro, 2013).

O cálcio (Ca) é um importante ião, necessário para a normal atividade muscular e coagulação (Mazzaferro, 2013).

O magnésio é necessário para a regulação e o normal funcionamento da bomba de sódio-potássio (Mazzaferro, 2013).

O quadro 8 apresenta uma comparação da composição de várias soluções cristaloides.

Quadro 8. Composição de fluidos cristaloides (Adaptado de Pachtinger & Drobatz, 2008; Mazzaferro, 2013).

Fluido	Osmolaridade	Tampão (mEq/l)	Na (mEq/l)	Cl (mEq/l)	K (mEq/l)	Ca (mEq/l)	Mg (mEq/l)	Glucose (g/l)
Plasma	300	24 (B)	145	105	5	5	3	0,7-1,1
Normosol-R	296	27 (A) 23 (G)	140	98	5	0	3	0
Plasmalyte-A	294	27 (A) 23 (G)	140	98	5	0	3	0
NaCl 0,9%	308	0	154	154	0	0	0	0
Lactato de Ringer	272	28 (L)	130	109	4	3	0	0
Dextrose em água 5%	252	0	0	0	0	0	0	50
NaCl 0,45% + Dextrose 2,5%	280	0	77	77	0	0	0	25
Normosol-M	363	16 (A)	40	40	13	0	3	50
Plasmalyte-M	377	12 (A) 12 (L)	40	40	16	5	3	100
NaCl 3%	1026	0	513	0	0	0	0	0
NaCl 7%	2400	0	1283	0	0	0	0	0

Tampões usados: Acetato (A), Bicarbonato (B), Gluconato (G), Lactato (L).
Abreviaturas: Ca, cálcio; Cl, cloro; K, potássio; Mg, magnésio; Na, sódio.

A elevada permeabilidade do endotélio capilar face aos fluidos cristaloides permite que, 30 a 60 minutos após a sua administração, cerca de 75% do volume administrado se redistribua para o compartimento intersticial, restando apenas 25% do volume administrado no espaço intravenoso (Figura 25). Assim sendo, esta capacidade permite a rápida reidratação do paciente, implicando, o uso de grandes volumes ou bolus de fluidos (Haskins & Macintire, 2012; Liss, 2012; Donohoe, 2015; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

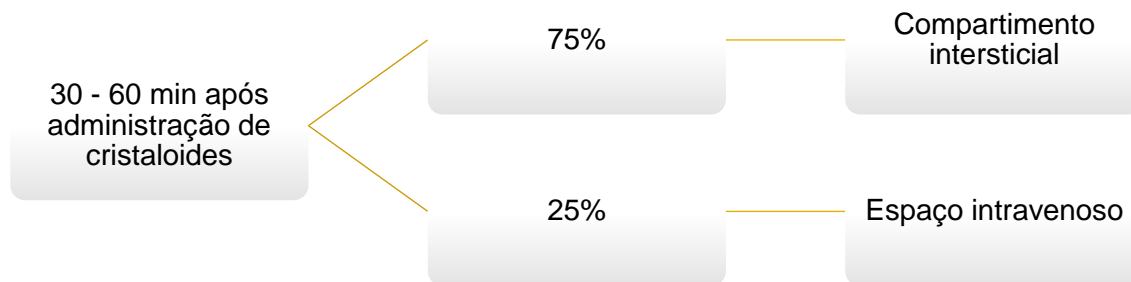


Figura 24. Redistribuição do fluido cristalóide após 30-60 min de administração (Adaptado de Liss, 2012; Donohoe, 2015; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

O aumento do volume intersticial conferido por estas soluções deve ser controlado, evitando a formação de edema intersticial, pulmonar e/ou cerebral. O uso destes fluidos deve ser efetuado com precaução em animais com pressão oncótica reduzida, contusão pulmonar, traumatismo ou aumento da pressão intracraniana, doença renal e doença cardíaca. A administração de grandes volumes pode conduzir à hemodiluição, verificando-se posteriormente anemia, hipoproteinemia, distúrbios eletrolíticos, hipocoagulabilidade e/ou dano no endotélio capilar (Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

Os fluidos cristalóides podem ser classificados consoante a sua concentração de solutos como isotónicos, hipotónicos ou hipertónicos e quanto à sua função, de reposição ou de manutenção (Nolan, 2001; Driessen *et al.*, 2006; Mazzaferro, 2013).

Cristalóides isotónicos/Fluidos de reposição

Os cristalóides isotónicos possuem uma concentração de solutos muito semelhante à do compartimento extracelular, o que não altera significativamente a pressão oncótica dentro do espaço intravascular nem provoca movimentos relevantes de fluidos entre os compartimentos. Assim sendo, estes fluidos podem ser administrados em grande volume de forma segura e são selecionados para a reposição das perdas e restauração do volume sanguíneo (Haskins & Macintire, 2012; Donohoe, 2015).

A administração intravascular de fluidos cristalóides isotónicos resulta numa reposição de volume intravascular e intersticial e numa acumulação

intracelular mínima de fluídos. Como resultado da rápida passagem da solução do espaço intravascular para o espaço intersticial, têm de ser administrados grandes volumes para repor uma perda intravascular. A administração IV rápida de cristaloides isotónicos causa uma expansão de volume vascular contínua até que a infusão páre, altura em que a maioria do volume administrado está no sistema vascular. Em regra, a quantidade de cristalóide isotónico administrado deve ser igual ao triplo da perda estimada de volume intravascular (Al Khafajji & Webb, 2004; Pachtlinger & Drobotz, 2008; Jasani, 2011; Aldrige & O'Dwiyer, 2013).

Os cristaloides isotónicos são baratos, encontram-se abundantemente disponíveis no mercado e têm um longo histórico de sucesso na reposição de fluidos (Jasani, 2011).

Em caso de choque, a redistribuição de fluidos cristaloides para o interstício é benéfica, uma vez que o problema também envolve perdas de sais e água pré-existentes que esgotaram o volume extracelular, como o caso da desidratação (Hughes, 2006; Aldrich, 2009; Jasani, 2011).

Caso os cristaloides isotónicos forem administrados muito lentamente, a expansão de volume vascular desejada não é alcançada, cerca de 75% do volume administrado é distribuído pelo interstício, predispondo o paciente a uma sobrecarga de fluido intersticial e, possivelmente, a edema pulmonar (Al-Khafajji & Webb, 2004; Aldrich, 2009).

Os cristaloides isotónicos diluem todos os componentes do plasma, exceto os iões que estão presentes no fluido administrado, numa concentração igual à plasmática. Mais preocupante é a diluição da albumina e a consequente diminuição da pressão oncótica e diluição da massa de glóbulos vermelhos. Com a redistribuição dos fluidos cristaloides este efeito é reduzido (Hughes, 2006; Aldrich, 2009; Boag, 2011).

No quadro 9 constam exemplos de fluidos cristaloides isotónicos (NaCl 0,9%, solução de Lactato de Ringer, Plasmalyte-A e Normosol-R) e as suas respetivas indicações e contraindicações de administração (Haskins & Macintire, 2012; Pascoe, 2012; Mazzaferro & Powell, 2013; Donohoe, 2015).

Quadro 9. Fluidos cristaloides e as suas indicações e contraindicações de administração (Adaptado de Haskins & Macintire, 2012; Pascoe, 2012; Mazzaferro & Powell, 2013; Donohoe, 2015).

Fluido	Indicações	Contraindicações
NaCl 0,9%	Reposição/Desidratação Choque hipovolémico Anorexia Vômito Diarreia Alcalose metabólica (hipocloremia) Hipercalémia Hipercalcémia Hiponatremia aguda Hipernatremia crónica Insuficiência rena	Doença cardíaca Doença hepática Acidose metabólica
Lactato de Ringer	Reposição/Desidratação Choque hipovolémico Vômito Diarreia Hipocalcémia Acidose metabólica Insuficiência renal	Hipercalcémia Hipercalémia Linfossarcoma Insuficiência hepática Em conjunto com transfusão sanguínea
Plasmalyte-A	Reposição/Desidratação Acidose metabólica Anorexia Vômito Choque hipovolémico Diarreia (hipomagnesemia) Insuficiência renal	Hipercalémia Alcalose metabólica
Normosol-R	Reposição/Desidratação Acidose metabólica Anorexia Vômito Choque hipovolémico Diarreia (hipomagnesemia) Insuficiência renal	Hipercalémia Alcalose metabólica

Lactato de Ringer

O lactato de Ringer (LR) é um cristalóide isotônico de reposição tamponado, sendo o tampão utilizado o lactato. É um dos fluidos mais utilizados em clínicas de pequenos animais. É considerado um fluido versátil, e pode ser utilizado no tratamento de animais que apresentam hipovolemia e desidratação e para reposição de perdas contínuas (Nolan, 2001; Liss, 2012; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O lactato de Ringer tem uma tonicidade semelhante à do plasma e pode ser usado para repor esses déficits de perfusão. Contém cerca de 130 mEq/l de sódio, 109 mEq/l de cloro, 4 mEq/l de potássio, 3 mEq/l de cálcio e 28 mEq/l de lactato (Nolan, 2001; Liss, 2012; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

Como referido anteriormente, o LR contém lactato como um precursor do bicarbonato, o qual é importante para a regular do pH. A administração deste fluido pode, por vezes, encontrar-se associada a um aumento das concentrações de lactato em animais com lesão hepática severa, uma vez que estes podem não conseguir metabolizar facilmente o lactato nos fluidos (Pachtinger & Drobatz, 2008; Liss, 2012; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

Os eletrólitos presentes no LR são semelhantes, em composição, ao fluido extracelular, isto é, o sódio relativamente alto e o potássio relativamente baixo. Assim sendo quando usado para expansão do fluido intravascular, este cristalóide vai equilibrar com o fluido intersticial, o que significa que menos de 25% de fluido vai permanecer no espaço intravascular após uma hora. Podem ser administrados grandes volumes rapidamente, quando necessário, sem muito risco de alterações eletrolíticas drásticas. Se for usado durante muito tempo existe uma tendência para hipocalcemia, nos casos em que o paciente não se está a alimentar (Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O quadro 10 indica as taxas iniciais de LR a administrar a cães e gatos com hipovolemia. Normalmente, são administrados bolos iniciais de fluidos, durante 15 a 20 minutos (Jasani, 2011).

Quadro 10. Linhas de orientação gerais da terapia com lactato de Ringer em cães e gatos hipovolêmicos (Adaptado de Jasani, 2011).

Hipovolémia	Previsão da taxa inicial de fluidos (ml/kg)			Quantidade do bolo Inicial (ml)
	Ligeira	Moderada	Severa	
Cães	20 – 40	40 – 60	60 – 90	10 – 40
Gatos	10 – 20	20 – 40	40 – 60	5 – 20

A dose de fluidos recomendada para animais hipovolêmicos é de 90 ml/kg, em cães e 44 ml/kg, em gatos. No entanto, a administração de um volume tão grande de LR pode ser demorada e pode diluir fatores de coagulação, plaquetas e glóbulos vermelhos. Para além disso, aproximadamente 75 a 80% do volume de solução administrado vai abandonar o espaço vascular, no período de uma hora após a administração. Em vez de administrar uma dose de choque de fluidos completa, é preferível administrar um quarto, o mais rápido possível, e reavaliar os parâmetros de perfusão (Mazzaferro, 2013).

Caso o paciente não estiver a responder ou os parâmetros de perfusão não estiverem a normalizar, deve-se administrar mais um quarto da dose de choque de LR (Mazzaferro, 2013).

Deve ter-se especial atenção com a administração de grandes volumes de fluidos a pacientes em choque hipovolémico, secundário a hemorragia, particularmente aos que tenham sinais de trauma fechado da cavidade abdominal. O excesso de fluidos cristaloides pode conduzir a extravasamentos para o espaço intersticial dos pulmões e do cérebro, quando estão presentes contusões pulmonares e traumatismo craniano, respetivamente (Mazzaferro, 2013).

A reposição rápida do volume e da pressão sanguínea para valores suprafisiológicos pode fazer com que coágulos, entretanto formados, voltem a sangrar e causar retrocesso no processo hemorrágico (Mazzaferro, 2013).

No entanto, não é recomendada a administração de LR, em conjunto com produtos derivados de sangue, devido ao papel importante que o cálcio tem na cascata de coagulação. O LR tem sido associado a alterações nos estados

imunológicos e pró-inflamatórios, tais como a ativação de neutrófilos e aumento da apoptose (Aldrich, 2009; Liss, 2012).

Cristaloides hipotónicos/Fluidos de manutenção

Os cristaloides hipotónicos possuem uma concentração de solutos inferior à do compartimento extracelular. Como tal, não devem ser administrados rapidamente, dada a alteração na pressão oncótica que provocam dentro do espaço intravascular, induzindo o movimento de fluidos do compartimento intravascular para o compartimento intracelular de modo a atingir o equilíbrio (Haskins & Macintire, 2012; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

Segundo Silverstein & Santoro-Beer (2015) as perdas diárias obrigatórias de fluidos, nomeadamente urina, fezes e respiração, são hipotónicas. Assim, os cristaloides hipotónicos são considerados fluidos de manutenção e não devem ser usados para restauração do volume sanguíneo (Donohoe, 2015; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

Soluções hipotónicas como dextrose 5% e NaCl 0,45%, resultam numa distribuição intracelular dos fluidos e não são eficientes na reposição de fluidos (Jasani, 2011; Aldrige & O'Dwyer, 2013).

As soluções dextrose 5 % são considerados cristaloides fracos expansores de volume, e diluem os eletrólitos séricos, são também considerados inadequados para a reposição de volume intravascular, em casos com deficits de perfusão (Aldrige & O'Dwyer, 2013).

A solução salina hipotónica (NaCl a 0,45%), não deve ser usada para o tratamento do choque hipovolémico, pois contém demasiada água livre e distribuem-se excessivamente pelo compartimento intracelular. Tal facto pode conduzir a uma diminuição rápida e severa dos níveis de sódio séricos, o que é potencialmente prejudicial (Driessen & Brainard, 2006; Liss, 2012).

Cristaloides hipertónicos

Os cristaloides hipertónicos possuem uma concentração de solutos superior à do compartimento extracelular, conduzindo assim, à alteração da osmolaridade que, por sua vez, leva ao movimento de fluidos a partir do compartimento intersticial e do compartimento intracelular para o compartimento intravascular (Pachtinger, 2010; Donohoe, 2015).

Estas soluções mostram-se indicadas para a rápida restauração do volume sanguíneo, sem a necessidade de administração de quantidades elevadas (Haskins & Macintire, 2012; Donohoe, 2015).

Para além da expansão do volume intravascular, os cristaloides hipertónicos aumentam o DC, a pressão arterial sanguínea e a perfusão dos tecidos. Contudo, a sua administração pode conduzir a hipernatrémia, hiperclorémia, hiperosmolaridade, broncoconstrição e acidose metabólica, quando administrados em quantidades elevadas sem monitorização atenta ou hipotensão e bradicardia quando administrados rapidamente (Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).

Idealmente, os cristaloides hipertónicos devem ser administrados em conjunto com cristaloides isotónicos (Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).

b) Coloides

Os coloides contêm partículas com um grande peso molecular e encontram-se divididos em duas categorias: naturais e sintéticos. Os coloides naturais incluem sangue total com proteínas plasmáticas, plasma, soluções de transporte de oxigénio à base de hemoglobina e soluções concentradas de albumina. Enquanto que os coloides sintéticos incluem as gelatinas, os hidroxietilamidos e os dextrans, sendo que estes variam entre si no peso molecular e duração da ação (Nolan, 2001; Al-Khafaji & Webb, 2004; Driessen *et al.*, 2006; Pachtinger & Drobatz, 2008; Jasani, 2011; Mazzaferro, 2011; Liss, 2012; Mazzaferro, 2013).

No quadro 11 estão representadas as propriedades das soluções coloides.

Quadro 11. Propriedades das soluções coloides (Adaptado de Mazzaferro, 2013).

Coloide	Pressão oncótica (mmHg)	Meia-vida sérica	Expansão de volume intravascular	Peso molecular médio (Da)
Albumina 25%	70	16h	4-5	69000
Dextrano 70 6%	60	7-9h	0,8	41000
Oxipoligelatina	46	2h	1	35000
Voluven (Hidroxietilamido 130/0,4 a 6% em NaCl 0,9%)	36	4-6	1	130000
Hidroxietilamido 6%	35	7-9h	1-1,3	69 000
Pentastarch 10%	32	10h	1,5	120 000
Albumina 5%	20	16h	0,7-1,3	69000

Os coloides que têm uma pressão oncótica semelhante à do plasma possuem uma menor capacidade de expansão intravascular, do que fluidos como a albumina a 25%. O hidroxietilamido tem um peso molecular médio semelhante ao da albumina, a proteína encontrada naturalmente dentro do organismo que contribui para 75 a 80% da pressão oncótica do plasma.

No quadro 12 estão representadas as doses recomendadas de soluções coloides disponíveis para uso veterinário.

Quadro 12. Doses recomendadas de soluções coloides disponíveis para uso veterinário (Adaptado de Mazzaferro, 2013).

Coloide	Dose dos bolos recomendada para cães	Dose dos bolos recomendada para gatos	Dose diária recomendada para cães	Dose diária recomendada para cães
Hidroxietilamido	5-10 ml/kg	5 ml/kg	20-30 ml/kg/dia	20 ml/kg/dia
Dextrano 70	5-10 ml/kg	5 ml/kg	20-30 ml/kg/dia	20 ml/kg/dia
Pentastarch	10-40 ml/kg	5 ml/kg	10-25 ml/kg/dia	5-10 ml/kg/dia
Albumina 25%	4-5 ml/kg para tratar hipotensão	2-3 ml/kg para tratar hipotensão	5 ml/kg/dia pode aumentar com perdas contínuas	3 ml/kg/dia pode aumentar com perdas contínuas
Oxipoligelatina	3-5 ml/kg durante 15 min, depois 5-15 ml/kg mais lentamente	3-5 ml/kg durante 15 min, depois 5-15 ml/kg lentamente	20 ml/kg/dia	20 ml/kg/dia

Os fluidos coloides são soluções heterogêneas com moléculas de grande tamanho (>20,000 KDa), como o caso da albumina e não são capazes de atravessar o endotélio capilar (Pachtinger, 2010; Haskins & Macintire, 2012; Plunkett, 2013; Donohoe, 2015).

Tendo em conta a impossibilidade de movimento para fora do compartimento intravascular, cerca de 60%-80% do volume administrado mantém-se neste espaço (comparativamente com 20% a 30% dos fluidos cristaloides), tornando os fluidos efetivos para uma maior expansão do volume sanguíneo, reposição das perdas proteicas e manutenção de uma pressão oncótica estável com necessidade de administração de uma menor quantidade de fluido (Haskins & Macintire, 2012; Donohoe, 2015).

Os coloides sintéticos redistribuem-se pelo espaço intersticial a uma velocidade muito mais lenta, em comparação com os cristaloides isotônicos, permanecendo no espaço intravascular mais tempo, o que irá causar o aumento da pressão oncótica, conduzindo ao movimento de fluido do espaço intersticial para o espaço vascular, tornando a reposição volêmica mais eficiente. A administração de coloides aumenta o volume de sangue numa quantidade superior ao total de volume de coloide administrado. Isto significa que a reposição da volémia é possível com a administração de volumes mais

pequenos (Hughes, 2006; Pachtinger & Drobatz, 2008; Jasani, 2011; Liss, 2012; Mazzaferro, 2013).

O movimento de fluidos entre compartimentos é regulado pelo balanço relativo da pressão oncótica e da pressão hidrostática, em ambos os lados da membrana semipermeável da vasculatura. O tamanho da partícula, o tamanho dos poros da vasculatura e a carga da partícula também são considerados fatores que podem influenciar o movimento ou retenção de uma partícula dentro do espaço vascular e interstício (Al-Khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Boag, 2011; Mazzaferro, 2011; Rudloff, 2012; Mazzaferro, 2013).

A administração de soluções coloides está indicada quando o valor de proteína total é inferior a 3,5-4,5 g/dL e/ou quando a pressão oncótica é inferior a 15 mmHg ou quando há probabilidade de diminuição desta com a administração de fluidos cristaloides (Pachtinger, 2010; Haskins & Macintire, 2012).

Os fluidos cristaloides podem ser administrados conjuntamente com estas soluções, de modo a diminuir o seu volume de infusão e obter uma melhor correção da hipovolemia e da reposição das perdas (Donohoe, 2015).

Apesar da utilidade das soluções coloides, deve ter-se em atenção a possibilidade da libertação de histamina quando administrados em gatos e o risco de reações do tipo anafiláticas (Liss, 2012; Donohoe, 2015).

É fundamental a monitorização atenta do animal sob esta terapia, já que não se pode confiar na determinação dos tempos de coagulação nem da densidade urinária, uma vez que estes parâmetros estão falsamente aumentados (Haskins & Macintire, 2012; Donohoe, 2015).

As soluções coloides são úteis durante o tratamento de condições associadas a hipovolémia e ao choque séptico, vasculites, hipoproteinémia, efusão pleural, efusão peritoneal e edema periférico. Uma vez que os coloides providenciam volume intravascular e os cristaloides corrigem os deficits intra e extravasculares, a infusão de coloides é feita frequentemente em combinação com cristaloides, durante o choque hipovolémico (Jasani, 2011; Mazzaferro, 2011; Rudloff, 2012; Mazzaferro, 2013).

No quadro 13 encontra-se resumidamente as principais aplicações dos fluidos coloides.

Quadro 13. Principais aplicações dos fluidos coloides (Mazzaferro, 2013).

Coloides	Principais aplicações
Hidroxietilamido	Aumento da pressão sanguínea Aumento da pressão oncótica Aumento de níveis de proteínas totais Aumento dos níveis de albumina
Gelatinas	Aumento da pressão sanguínea Aumento da pressão oncótica.
Dextranos	Expansão rápida do volume vascular Aumento da pressão sanguínea Aumento da pressão oncótica
Pentastarch	Aumento da pressão sanguínea Aumento da pressão oncótica.
Fluidos de transporte de oxigénio baseados em hemoglobina	Tratamento de anemia Aumento da pressão oncótica Aumento da pressão osmótica – animais hipotensos Melhoria do transporte de oxigénio
Concentrado de albumina humana	Situações de hipoalbuminémia Aumento de proteínas totais séricas Aumento da pressão oncótica sérica Aumento de pressão sanguínea
Produtos derivados do sangue	Estados hipovolémicos causados por hemorragia

Hidroxietilamido 130/0,4

A família dos hidroxietilamidos contém diferentes preparações com bastantes pesos moleculares diferentes. As soluções de hidroxietilamido contêm um polímero sintético de amilopectina, sendo esta molécula de amido altamente ramificada colocada em suspensão numa solução salina a 0,9% ou numa solução de lactato de Ringer. A natureza ramificada do polímero produz um fluido que contém moléculas de vários tamanhos, que vão dos 10 000 aos 1 000 000 Daltons (Da). As partículas do hidroxietilamido têm um peso molecular superior às dos dextrans. Estas grandes partículas permanecem no plasma dos pacientes por aproximadamente 36 horas (Driessen *et al.*, 2006; Mazzaferro, 2011; Donohoe, 2012; Liss, 2012; Rudloff, 2012; Mazzaferro, 2013).

Os coloides, como o hidroxietilamido 130/0,4, são soluções à base de água com um grande peso molecular, o qual não atravessa facilmente a membrana capilar saudável. São considerados melhores expansores de volume, uma vez que 50 a 80% do volume administrado permanece no espaço intravascular, após uma hora. Estima-se que causem uma expansão de volume inicial entre os 70 e os 170% do volume administrado (Aldrige & O'Dwyer, 2013; Mazzaferro, 2013).

Os coloides são indicados quando os cristaloides não estão a conseguir aumentar, com eficácia, a pressão sanguínea e/ou quando os níveis de proteínas totais ou de albumina estão abaixo de 3,5 g/dl ou 2,0 g/dl, respetivamente, e a pressão oncótica se encontra comprometida (Aldrige & O'Dwyer, 2013; Mazzaferro, 2013).

Os hidroxietilamidos com maior peso molecular podem ser administrados em doses de 5 ml/kg em cães e 2,5 ml/kg em gatos, durante 5 a 15 minutos, até ao limite de 4 administrações ou 20 ml/kg, numa só infusão rápida. Os hidroxietilamidos de menor peso molecular, como o caso do HES 130/04, podem seguir doses semelhantes podendo, no entanto, ser administrados em doses superiores a 20 ml/kg/dia, quando necessário, sem que ocorra um risco acrescido de coagulopatias (Liss, 2012; Rudloff, 2012).

O HES 130/0,4 é um coloide sintético de última geração, com um peso molecular muito baixo. O seu peso médio é de 130 000 Da e pode ser administrado em grandes doses, até 50 ml/kg/dia. Tem um efeito mínimo no

prolongamento do tempo de coagulação (Chan, 2008; Hamimy et al., 2011; Mazzaferro, 2011; Liss, 2012; Rudloff, 2012).

Alguns animais apresentaram reações alérgicas, após a administração desta solução. A administração de bolos muito rapidamente pode causar a libertação de histamina em felinos. Esta reação é evitada, na maioria dos casos, se a administração do hidroxietilamido for feita, durante um período de 15 a 20 minutos. Pacientes que recebam doses excessivas demonstram algum grau de comprometimento na coagulação. Este comprometimento não se tem associado a hemorragias espontâneas ou hemorragias clinicamente significativas e, aparentemente, deve-se à diminuição da concentração do fator VIII e do fator de Von Willebrand e também ao efeito diluidor que os hidroxietilamidos exercem sobre outros fatores de coagulação (Al-Khafaji & Webb, 2004; Hughes, 2006; Pachtinger & Drobatz, 2008; Rudloff, 2012; Mazzaferro, 2013).

Cristaloides vs Coloides

Os coloides são amplamente utilizados na ressuscitação de pacientes em estados críticos. Existe um debate em curso sobre a eficácia relativa de coloides em comparação com os cristaloides.

Foram realizados ensaios controlados aleatórios de fluidos coloides em comparação com fluidos cristaloides, em pacientes que necessitaram de reposição de volume. Nesse estudo não houve evidência de ensaios clínicos que demonstrassem que a ressuscitação por coloides reduzia o risco de morte, em comparação com a ressuscitação com cristaloides, em pacientes com trauma, queimaduras ou após cirurgia. Foi ainda demonstrado que o uso de HES pode aumentar a mortalidade dos pacientes. Os coloides não foram associados a uma melhoria na sobrevivência das pacientes, sendo consideravelmente mais caros que os cristaloides (Perel, 2013).

Um estudo recente László *et al.*, 2017, demonstrou que, em eventos de hemorragia aguda, como o caso de trauma ou de cirurgia, os coloides eram benéficos, uma vez que a estabilidade hemodinâmica poderia ser alcançada mais rapidamente do que com os cristaloides. Este estudo baseou-se na comparação de uma solução colóide (Voluven®, HES) e de uma solução cristalóide (Ringerfundin®, RF) durante um modelo experimental de hemorragia

e ressuscitação guiada pelo índice de volume de acidente vascular cerebral (AVC).

Pina (2014), no seu projeto de aplicação de cuidados anestésicos na monitorização precoce de situações clínicas de hipoperfusão orgânica, concluiu, através dos resultados obtidos pelos métodos de imunohistoquímica (citocromo C e TUNEL) e de imunofluorescência (M30), que os animais tratados com a solução cristalóide (LR) apresentaram menor grau de lesão, quando comparados com os animais tratados com a solução colóide (HES 130/0,4) apresentando valores muito semelhantes aos animais que não foram sujeitos a sangramento ou a qualquer reposição volémica. Concluindo assim que o RL possui uma maior capacidade de prevenção da lesão de hipoperfusão a nível hepático, quando comparado com o HES 130/0,4 e de preservação da arquitetura celular em situações de hipoperfusão, hemorragia e recuperação sob anestesia geral.

No figura 26 estão resumidas as vantagens e desvantagens dos cristalóides e colóides.

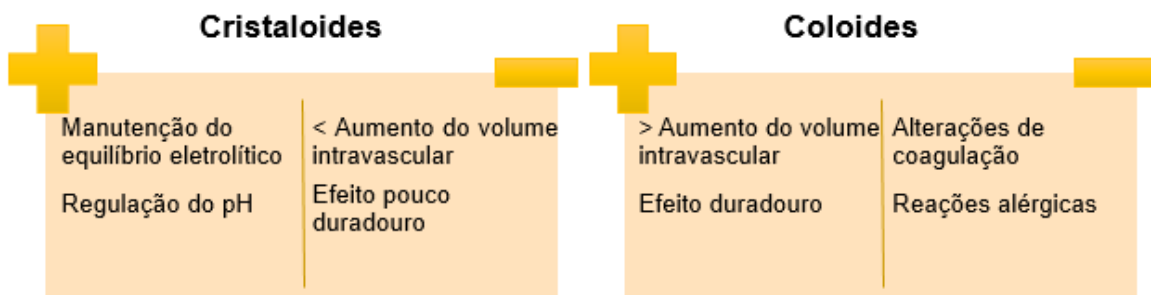


Figura 25. Relação entre as principais vantagens e desvantagens de cristalóides e colóides (Adaptado de Pina, 2014).

2.3.2. MONITORIZAÇÃO

Após a instituição do plano de fluidoterapia é essencial a realização da monitorização atenta do animal, adequando a administração e o tipo de fluido às alterações do estado clínico do animal (Boag & Hughes, 2007; Plunkett, 2013).

A monitorização básica do paciente sob fluidoterapia passa pela realização de exames físicos regulares, particularmente direcionados para avaliação da perfusão e da hidratação e para a deteção de complicações associadas, como o aumento da frequência e esforço respiratórios, a auscultação de estertores compatíveis com edema pulmonar, a taquicardia, a descarga nasal serosa, a quemose, a distensão da veia jugular ou a formação de edema periférico (Boag & Hughes, 2007; Donohoe, 2015; Silverstein & Santoro-Beer, 2015).

O objetivo do tratamento do paciente em estado de hipoperfusão consiste na otimização das funções do sistema cardiovascular. O DC, a PA e o fornecimento de oxigénio são dependentes do volume de sangue e, quando este é expandido, os parâmetros cardiovasculares normalizam (Stephen *et al.*, 2006).

A monitorização, as ferramentas de monitorização dos mesmos e um exame físico completo são de extrema importância para a estabilização destes pacientes críticos, uma vez que, fornecem dados importantes da resposta à terapia (Stephen *et al.*, Barton, 2009).

As alterações do peso, do débito urinário, da dor e do estado mental permitem uma deteção precoce de disfunções orgânicas (Brady & Otto, 2001).

Considerando a elevada percentagem de água que compõe o corpo, a medição do peso corporal mostra-se um parâmetro útil para a deteção de alterações de hidratação. Assim, o aumento ou diminuição do peso corporal correspondem ao ganho ou perda de fluidos, devendo ter-se em conta que o ganho de fluidos no animal não desidratado pode corresponder à sobrecarga de volume e o ganho de fluidos no animal que se mantém desidratado pode corresponder a movimento de fluidos intravasculares para o terceiro espaço, ou seja, para uma cavidade corporal (espaço pleural, peritoneal ou intersticial) sem perda de peso associada (Boag & Hughes, 2007; DiBartola & Bateman, 2012; Donohoe, 2015).

Os vários sistemas devem ser monitorizados após a entrada e estabilização do paciente. Devem ser realizados diversos testes e exames tais como o hemograma, gases arteriais, lactato, bioquímicas (creatinina, ureia, alanina transferase (ALT), albumina, proteínas totais, fosfatase alcalina e ionograma), medição do débito urinário e testes de coagulação. A avaliação do sedimento urinário permite verificar a existência de células inflamatórias, cilindros e proteínas (Stephen *et al.*, 2006; Hackett, 2011).

A medição dos valores de hematócrito e proteínas totais permite a avaliação do grau de desidratação/reidratação do animal, bem como a detecção da necessidade de administração de fluidos coloides ou produtos sanguíneos. Já a medição dos níveis de eletrólitos permite a detecção de desequilíbrios eletrolíticos e a sua correção (Boag & Hughes, 2007)

Radiografias abdominais e torácicas, ecografia abdominal e ecocardiografia podem estar indicadas após a estabilização do paciente (Stephen *et al.*, 2006, Barton, 2009).

Oxigenoterapia

Por norma, a melhoria da condição clínica do animal é um meio suficiente de determinar a resposta do paciente à oxigenoterapia. A melhoria na cor das mucosas, diminuição da frequência e do esforço respiratório e redução da ansiedade indicam-nos uma resposta favorável à suplementação de oxigénio (Manning, 2002).

De forma mais objetiva, a monitorização da oxigenoterapia pode ser realizada através de medições dos gases artérias e pela pulsioximetria. A pulsioximetria é um método simples e não invasivo de monitorização constante ou intermitente da saturação de oxigénio (SpO₂). Este método estima a saturação da hemoglobina, a oxigenação do paciente, mas não avalia o DO₂ ou a perfusão dos tecidos (Manning, 2002).

Gasometria sanguínea

Os gases arteriais medem a PaO₂ e a PaCO₂ no sangue arterial e fornecem informações suficientes para determinar a eficácia da troca gasosa, da suplementação de O₂ e o equilíbrio metabólico ácido-base do paciente (Manning, 2002).

Os parâmetros avaliados através da gasometria são o pH, a PaO₂, a PaCO₂ e o bicarbonato (HCO₃⁻). Alguns equipamentos também conseguem medir eletrólitos, ureia, creatinina e lactato (Pachtinger, 2013).

Sistema cardiovascular

O volume sanguíneo é avaliado indiretamente através das medições da PA, da FC, do débito urinário e do hematócrito (Brady & Otto, 2001).

Em pacientes em estado de hipoperfusão e de choque, a determinação do volume sanguíneo permite-nos determinar a terapêutica a instituir e verificar a sua eficácia. A perfusão dos tecidos, o DC e a resistência vascular periférica podem ser avaliadas de forma indireta através da cor das mucosas e do TRC (Hackett, 2011).

Pressão arterial

A pressão arterial encontra-se normalmente diminuída em animais desidratados e a sua medição permite a avaliação do DC e da capacidade de perfusão vascular e a monitorização de animais em choque (Boag & Hughes, 2007; Donohoe, 2015). A correta avaliação do volume sanguíneo circulatório é realizada através da medição da pressão venosa central, da qual se obtém o valor da pressão hidrostática dentro do espaço vascular.

A pressão arterial é definida como a força que é exercida pelo sangue na parede arterial e não é sinónimo de débito cardíaco (Dias, 2002).

Um animal com insuficiência miocárdica devido a SIRS e vasoconstrição causada pela dor ou hipotermia, pode ter um DC muito baixo. Portanto, a monitorização da pressão arterial deve ser usada em associação com a história, com o exame físico e com outros parâmetros de monitorização, para fornecer o acompanhamento mais rigoroso e avaliação do sistema circulatório (Day, 2003).

Embora uma pressão arterial sanguínea baixa (PS < 90 mm Hg, PAM de 60 mm Hg) implique hipoperfusão grave e requeira tratamento urgente, constitui um indicador insensível de hipoperfusão ligeira a moderada porque os mecanismos homeostáticos do corpo atuam de forma a manter a pressão arterial sistémica dentro de valores normais, mudando a sua frequência cardíaca, o seu volume de ejeção e a sua resistência vascular sistémica. Além disso, a pressão arterial sistémica não é sinónimo de perfusão tecidual pois pacientes com DC baixo, mas com uma vasoconstrição periférica intensa, podem ter a pressão

arterial sistêmica normal ainda que tenham um fluxo sanguíneo tecidual perigosamente baixo (Boag & Hughes, 2005).

Apesar da medição da pressão arterial ser uma ferramenta valiosa, o clínico deve ter em mente de que a pressão arterial normal não exclui alterações da perfusão tecidual (Pachtinger & Drobatz, 2008).

Pressão venosa central (PVC)

O valor da PVC reflete alterações do volume de sangue venoso central, capacitância venosa, função ventricular direita e estado do volume intravascular sendo relativamente fácil de monitorizar, especialmente na prática hospitalar (Day, 2003) A PVC é influenciada pelo volume de sangue, pelo tónus venoso, pela função cardíaca e pela pressão intratorácica (Pachtinger, 2013).

Os valores de PVC normais são de 0 a 5 cmH₂O, em animais saudáveis com volémia normal. Medições baixas de PVC (<0 cmH₂O) são normalmente indicadoras de diminuição no volume de fluido intravascular ou podem ser secundárias a vasodilatação. Valores de PVC superiores a 10-12 cmH₂O são geralmente indicadoras de um risco aumentado de sobrecarga de volume intravascular ou podem ser observadas em situações de efusão pleural e/ou insuficiência cardíaca direita. Idealmente, a PVC deve ser de 7-10 cmH₂O. Em alguns animais a linha base de PVC pode ser superior a 10 cmH₂O devido a dobras no cateter, colocação imprópria do cateter ou devido a um aumento no fluido intravascular circulante. Nestes casos, se for necessária fluidoterapia IV, a PVC não deve ser aumentada em mais de 5 cmH₂O, a cada 24 horas. Se existir um risco inerente de sobrecarga de volume intravascular, devem ser monitorizados então os sinais clínicos acima mencionados (Quadro 14) (Pachtinger & Drobatz, 2008; Mazzaferro, 2013).

Quadro 14. Interpretação dos valores de pressão venosa central (Adaptado de Mazzaferro, 2013).

PVC (cmH₂O)	Interpretação	Causas possíveis
<-2	Hipovolémia severa	<p>Volume intravascular muito diminuído</p> <p>Desidratação severa</p> <p>Vasodilatação</p> <p>Medição imprecisa</p>
-2 a 0	Hipovolémia	<p>Volume intravascular diminuído</p> <p>Vasodilatação</p> <p>Medição imprecisa</p>
0 a 5	Normovolémia	<p>Volume intravascular normal</p> <p>Função cardíaca direita normal</p>
5 a 10	PVC normal a ligeiramente aumentada	<p>Pode ser normal</p> <p>Volume intravascular aumentado</p> <p>Fluxo de entrada diminuído no coração direito (doença miocárdica, tumor cardíaco, efusão pericárdica)</p> <p>Possibilidade de sobrecarga de volume iminente</p> <p>Medição imprecisa</p>
>10	PVC aumentada	<p>Volume intravascular aumentado</p> <p>Cateter dobrado</p> <p>Fluxo de entrada diminuído no coração (doença miocárdica, tumor cardíaco, tamponamento pericárdico)</p> <p>Sobrecarga de volume intravascular iminente</p> <p>Medição imprecisa</p>

Pacientes com hipoperfusão secundária à hipovolémia são suscetíveis de ter uma PVC baixa, e a sua leitura pode ser bastante útil para ajudar a orientar as taxas de fluidoterapia usadas no tratamento. Há algumas evidências experimentais de que a hipovolémia aguda pode levar à diminuição da distensibilidade ventricular e venoconstrição, originando um aumento da PVC. Assim, é possível que a medição da PVC possa ser pouco precisa no paciente com hemorragia aguda. Num animal que se apresenta em choque secundário a pancreatite e a SIRS, a PVC deve ser monitorizada o mais rapidamente possível (Day, 2003).

Débito urinário

O débito urinário relaciona-se com a capacidade renal de filtração e reabsorção dos fluidos, a sua monitorização é uma ferramenta importante para a avaliação do estado de hidratação do paciente. Os valores normais variam entre 1 a 2 mL/Kg/h. A diminuição do débito urinário (<0,5 mL/kg/hora) pode sugerir uma incorreta perfusão ou filtração renal, devido a hipotensão e hipovolémia, insuficiência renal, aumento da reabsorção ou causas pós-renais. O aumento do débito urinário (>2 mL/kg/hora) sugere a presença de uma doença subjacente, devendo adequar-se o volume de administração e o tipo de fluido com a mesma (Boag & Hughes, 2007; Donohoe, 2015).

A densidade urinária também deve ser medida e avaliada em conjunto com o débito urinário. Idealmente esta deve ser medida antes da fluidoterapia para permitir uma avaliação mais adequada da função renal (Pachtinger, 2013).

Lactato

A medição do lactato permite avaliar a perfusão dos tecidos e oxigenação, prever a resposta à terapêutica nos pacientes críticos e a avaliação da acidose metabólica (Sharkey & Wellman, 2013).

A sua medição pode determinar a gravidade da doença, resposta à terapia e avaliar o prognóstico do paciente (Sharkey & Wellman, 2013).

Animais críticos apresentam-se muitas vezes com inadequada entrega e/ou consumo de oxigénio e/ou com perfusão diminuída, desenvolvendo hiperlactatémia e acidémia que refletem a severidade de hipoxia celular (Laforcade & Silverstein, 2009).

A hiperlactatemia pode resultar de hipoperfusão, falência hepática, sépsis, fluidoterapia com soluções que contenham lactato, tóxicos e medicamentos. É definida com um valor do lactato acima de 2,5 mmol/L (Pachtinger, 2013).

A hipoperfusão ligeira está associada com níveis de lactato de 3 a 5 mmol/L, hipoperfusão moderada com níveis de 5 a 7 mmol/L e grave com níveis que excedem 7 mmol/L (Boag & Hughes, 2005).

Monitorização e resposta à hipotensão durante a anestesia

A hipotensão durante a anestesia é uma situação bastante comum, mesmo em animais saudáveis. O primeiro parâmetro a avaliar deve ser a profundidade anestésica, uma vez que esta é a causa mais comum de hipotensão. Em seguida, para estimar a perfusão tecidual devemos controlar a pressão sanguínea. Deve-se ter especial cuidado com o uso de apenas fluidoterapia para corrigir a hipotensão anestésica, uma vez que altas taxas de fluidos podem piorar as complicações, mais do que as prevenir (Davis *et al.*, 2013).

Se uma hipovolémia devida a vasodilatação periférica estiver a contribuir para a hipotensão do animal anestesiado, devemos proceder de acordo com o seguinte protocolo (Figura 27) (Davis *et al.*, 2013).

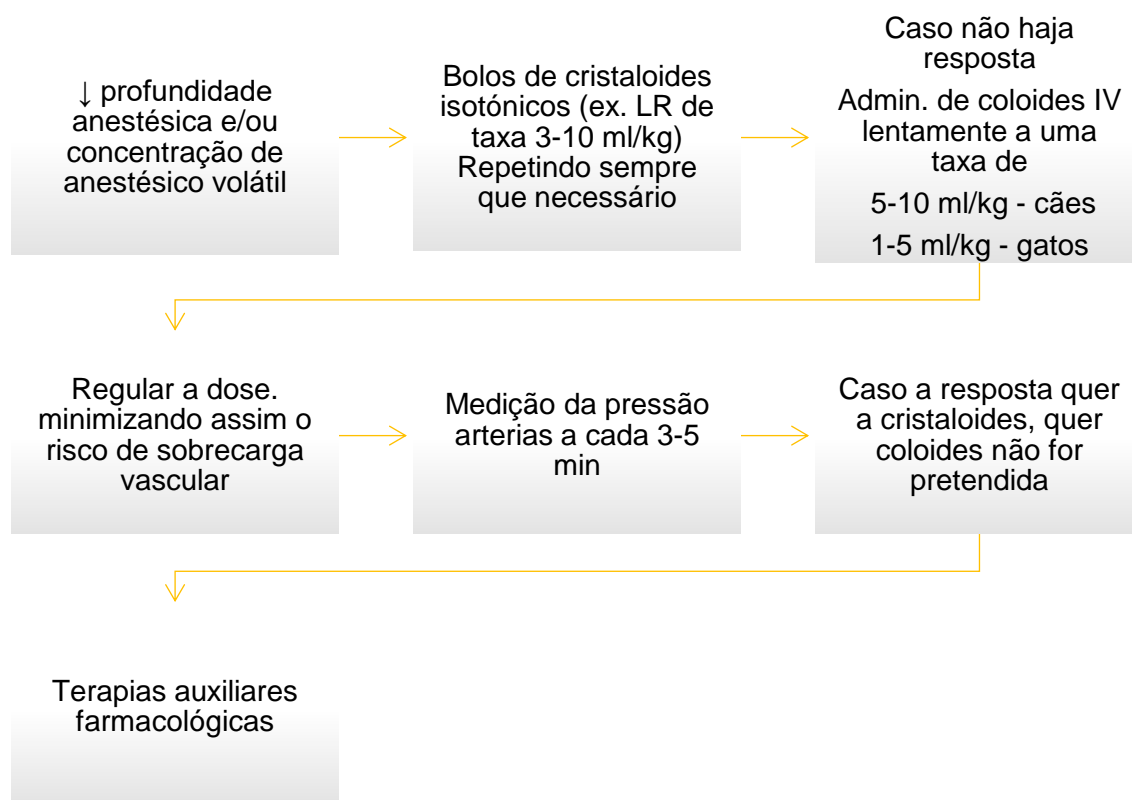


Figura 26. Protocolo em casos de hipovolemia devida a vasodilatação periférica caso esta contribuia para a hipotensão do animal anestesiado (Davis et al., 2013).

2.3.3. TERAPIAS AUXILIARES

As terapias auxiliares incluem agentes farmacológicos inotrópicos, como exemplo a dobutamina e a dopamina, fármacos vasopressores, tais como a epinefrina, a norepinefrina, a fenilefrina e a vasopressina, também conhecida como hormona antidiurética (Pachtinger & Drobatz, 2008).

Os estudos mais recentes indicam que o uso de vasopressores em conjunto com a fluidoterapia traz vantagens na recuperação de pacientes com choque distributivo (Beloncle, 2013). A pressão arterial, e conseqüente perfusão dos tecidos, pode ser melhorada através da utilização de agentes hipertensores (Brady & Otto, 2001).

2.4. PAPEL DO ENFERMEIRO VETERINÁRIO EM CASOS DE HIPOPERFUSÃO

A hipovolemia e a hipoperfusão são frequentemente uma ameaça à vida dos animais que chegam às urgências veterinárias. O exame físico é o suporte imediato da avaliação da perfusão tecidual. A identificação e tratamento rápidos de uma perfusão tecidual anormal e a correção da causa subjacente são as chaves para melhorar o prognóstico (Pachtinger & Drobatz, 2008; Jasani, 2011).

A fluidoterapia é a intervenção terapêutica mais comum nas urgências veterinárias. A compreensão das indicações para o uso de fluidos, dos tipos de fluidoterapia disponíveis e do protocolo mais apropriado para a sua administração é crucial, tanto para maximizar o benefício, como minimizar o potencial malefício associado ao uso desta terapia (Jasani, 2011).

A hipovolemia é uma das indicações mais comuns para o uso de fluidoterapia e é fundamental perceber a sua fisiopatologia, bem como realizar previamente uma completa avaliação clínica para administrar os fluidos apropriados (Jasani, 2011).

O exame físico no qual o Enfermeiro Veterinário (EV) participa, auxiliando o Médico Veterinário (MV), deve incluir a verificação dos parâmetros de hidratação e perfusão, assim como procurar quaisquer outras complicações da fluidoterapia, tais como edema, flebites e extravasamento de fluidos (Aldrige & O'Dwyer, 2013).

Além dos parâmetros de hidratação e perfusão, também o peso corporal, o débito urinário, a pressão arterial e a pressão venosa são parâmetros cruciais na avaliação da monitorização do paciente (Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O EV auxilia o MV na decisão sobre qual o melhor fluido, qual o melhor plano de fluido que deve ser executado, discutindo com ele os prós e contras de cada protocolo. Após a decisão do melhor plano de fluidoterapia, o EV pode realizar o acesso venoso mais indicado e escolhido pelo MV (Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O EV tem um papel crucial na monitorização de pacientes sob cirurgia, estando sempre atento ao estado clínico do animal, sempre que ocorra alguma alteração dos parâmetros (Aldrige & O'Dwyer, 2013).

O EV está presente e próximo do animal, acompanhando-o desde que ele entra até que sai da clínica. O EV se conhecedor dos parâmetros de perfusão e de hidratação, permite contribuir em muito no controlo da hipoperfusão dos pacientes encontrados nos CAMV, e ajudando a diminuir as taxas de morbilidade e mortalidade.

3. PARTE PRÁTICA

3.1. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo, consistiu na comparação do efeito de dois fluidos o lactato de Ringer (LR) e do Hidroxietilamido 130/0,4 (HES) na perfusão intestinal de um animal submetido a anestesia geral e posterior hemorragia provocada, seguido de reposição volêmica com cada um destes fluidos, um cristalóide e um colóide, respetivamente.

Para atingir este objetivo recorreu-se ao modelo suíno, tentando mimetizar-se as circunstâncias presentes nos casos de perdas de sangue agudas, particularmente durante intervenções cirúrgicas sob anestesia geral (Direcção Geral de Veterinária, Portugal; numero de aprovação DGV000228).

A fim de avaliar as diferenças entre estes dois fluidos, foram utilizados métodos de deteção de lesões histopatológicas, através da coloração de rotina de hematoxilina e eosina, e métodos de deteção de fenómenos apoptóticos, designadamente, métodos de imunohistoquímica (Citocromo C e TUNEL) e de imunofluorescência (M30).

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo envolveu dezoito porcos de raça Large White, com três meses de idade, provenientes de uma suinicultura autónoma (Unidade de Suinicultura da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real, Portugal). Os animais foram selecionados aleatoriamente 30 dias antes do início do estudo, alojados separadamente e com acesso *ad libitum* a comida e água, sendo submetidos à interação gradual entre humanos, afim de reduzir o stresse e proporcionar a familiarização. Nesse período efetuou-se ainda a desparasitação.

Um dia antes da realização do protocolo anestésico, os animais foram submetidos a jejum durante a noite, com acesso livre à água.

Os dezoito porcos foram submetidos a anestesia total intravenosa (TIVA) com propofol e remifentanil, durante a qual, foram realizados os procedimentos de monitorização e hemorragia provocada.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, os quais diferiam apenas nos seguintes aspetos:

Grupo controlo – constituído por seis porcos submetidos a TIVA, sem qualquer reposição volémica;

Grupo 1 – constituído por seis porcos que receberam uma solução IV de RL, vinte minutos após o final da hemorragia passiva;

Grupo 2 – constituído por seis porcos que receberam uma solução IV de HES 130/0,4, vinte minutos após o final da hemorragia passiva.

A todos os animais do grupo 1 e do grupo 2, foi removido, de forma passiva, um total de 25 ml/kg de sangue, a partir da artéria femoral, durante 20 minutos. Após um período de espera de mais 20 minutos, o volume intravascular foi repostado, usando RL, numa dose de 25 ml/kg, no caso do grupo 1 e HES 130/0,4, numa dose de 20 ml/kg, no caso do grupo 2 com taxa de infusão, em ambos os grupos, de 999 ml/h.

Após a reposição volémica, os animais permaneceram anestesiados por um período de 1 hora. O grupo controlo foi submetido a procedimentos semelhantes aos restantes, à exceção de sangramento e da reposição volémica (Figura 28).

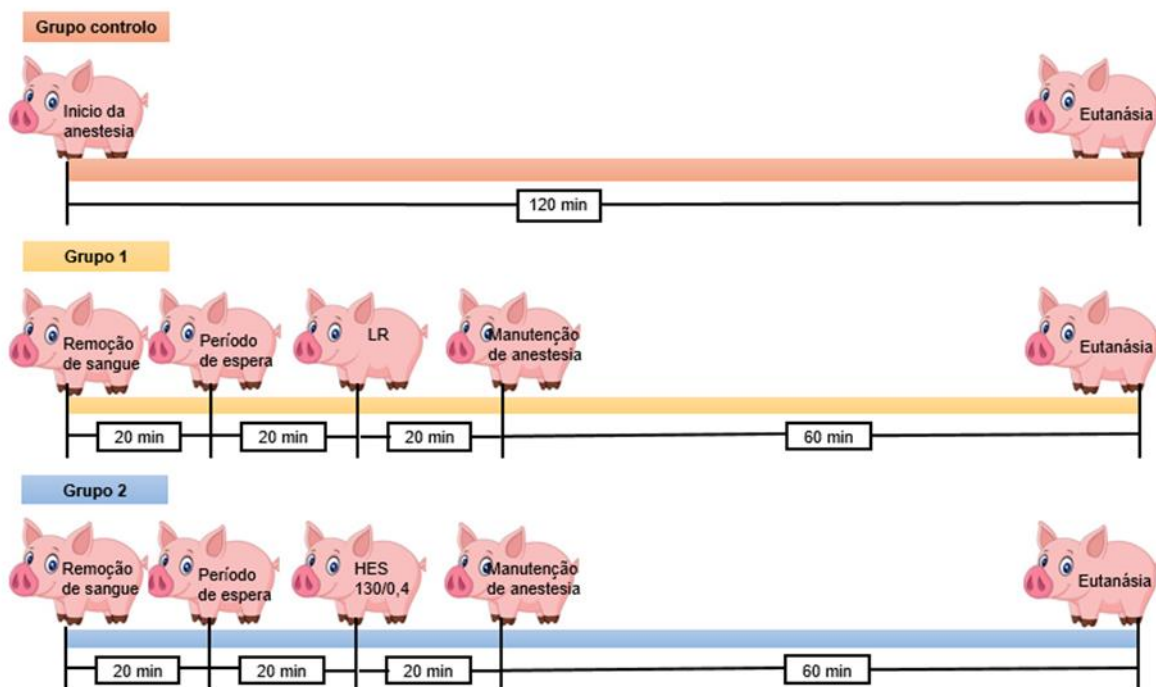


Figura 27. Cronograma de procedimentos realizado em cada grupo de animais neste projeto.

3.2.1. ANESTESIA, MONITORIZAÇÃO E EQUIPAMENTO

Trinta minutos antes do início da indução anestésica todos os porcos foram pré-medicados com azaperona por via IM, numa dose de 4 mg/kg (Stresnil®).

Após a pré-medicação foi colocado um cateter de 22G na veia auricular direita para administrar fármacos e fluidos. Foi utilizada uma torneira de três vias para ligar o cateter intravenoso ao sistema de fluidos de manutenção e ao sistema de administração de propofol 1% (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany) e remifentanil, numa dose de 20 µg/ml (Ultiva®, GSK, Midlessex, UK). Foi utilizada uma bomba de infusão Braun (Braun, Melsungen, Germany) para efetuar a administração de fluidos a uma taxa de infusão constante de 6 ml/kg/h + 1 ml/kg/h, por cada kg, acima dos 20 kg de peso, durante o total de período de estudo. O propofol e o remifentanil foram administrados usando duas bombas de seringa Asena GH (asena GH, Alaris Medical Systems).

A indução da anestesia foi feita com um bolo de propofol, na dose de 4 mg/kg.

De seguida, procedeu-se à entubação endotraqueal com um tubo endotraqueal de 6,5 mm. Os porcos foram ventilados mecanicamente com ar + O₂ (com um volume tidal de 10 ml/kg, a uma taxa respiratória de 12 a 14 mrm e uma taxa expiratória de 1:3, com correções na concentração de CO₂ da expiração (EtCO₂) com o objetivo de alcançar uma PaCO₂ de 40±4 mmHg).

Após a indução da anestesia, iniciou-se uma infusão intravenosa contínua de propofol a uma taxa de 15 mg/kg/h, que não foi alterada até ao final do estudo. Simultaneamente, iniciou-se a infusão contínua de remifentanil, a uma taxa de 0,3 µg/kg/h.

Foi colocada uma sonda de medição de saturação periférica de O₂ (SPO₂) na língua dos animais e o ritmo cardíaco foi monitorizado por três elétrodos de ECG, colocados de acordo com o recomendado pela Academy of Veterinary Cardiology Committe.

Após alcançar uma anestesia estável, foram feitos procedimentos cirúrgicos a fim de colocar cateteres venosos e arteriais do seguinte modo (Figura 29):

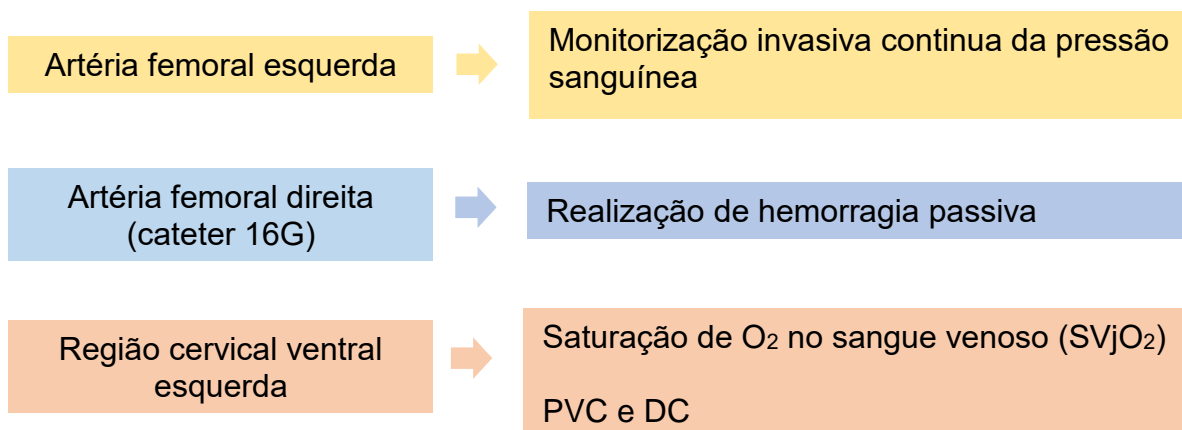


Figura 28. Procedimentos cirúrgicos realizados.

Na região cervical ventral esquerda foi recolhida a informação sobre a SVjO₂, através da colocação de um cateter ótico de Swan-Ganz 7F (Edwards, Life Sciences, Irvine, California) no *sinus petrosus ventralis*, através da veia jugular interna, foi também ainda recolhida informação sobre a PVC e o DC na artéria pulmonar, medido através de um método de termodiluição, colocando um cateter de Swan-Ganz 7F pela veia jugular externa esquerda.

Foi utilizado um monitor S/5 Datex (Datex-ohmeda, Helsinki, Finland) para recolher toda a informação hemodinâmica e ventilatória. Adicionalmente, a SVjO₂ foi analisada com recurso ao monitor Oxymetrix 3 (Abbott Laboratories, North Chicago, USA) ligado ao monitor S/5 Datex.

A informação eletroencefalográfica foi recolhida usando o monitor Aspect Medical A-2000XP BIS (Aspect Medical Systems, Newton, MA, USA), através de um elétrodo cutâneo, colocado de acordo com as instruções do fabricante (Aspect Medical Systems, Newton, MA). O índice de qualidade de sinal (IQS) e a taxa de supressão foram monitorizados continuamente.

Todos os monitores foram ligados, via ligação RS-232, a um computador com o software RugLoop II Waves[®], desenvolvido por Tom De Smet (Demed ENgineering, Temse, Belgium). Este software foi usado para gravar e armazenar toda a informação relativa à hemodinâmica, ventilação e eletroencefalografia, a cada 5 segundos. As bombas de seringa utilizadas para administrar o propofol e o remifentanil foram também controladas pelo software RugLoop II Waves[®].

3.3. PROTOCOLO CLÍNICO

Após efetuados todos os procedimentos de monitorização, a taxa de infusão de remifentanil foi alterada para uma infusão constante de 0,2 µg/kg/h e manteve-se inalterada durante todo o período do estudo. A taxa de infusão do propofol permaneceu em 15 mg/kg/h, desde o final da indução anestésica.

Antes de iniciar as hemorragias, foi recolhida uma amostra de sangue venoso de cada porco para análise hematológica e bioquímica.

Após terminados todos os processos de monitorização necessários e antes de iniciar a hemorragia, o DC foi medido, usando o método de termodiluição do Datex S/5. Posteriormente, foram removidos 25 ml/kg de sangue de cada porco, a partir da artéria femoral direita, durante aproximadamente 20 minutos.

No final da hemorragia foi realizada outra medição do DC e foram administrados os fluidos, lactato de Ringer, no grupo 1 e HES 130/0,4, no grupo 2, 20 minutos após a hemorragia, a uma taxa de infusão de 999 ml/h, usando uma bomba de infusão Braun (Braun, Melsungen, Germany).

O volume de HES 130/0,4, para a reposição volémica foi administrado numa dose de 20 ml/kg; a dose de lactato de Ringer foi 25% superior à administrada de HES, ou seja, 25 ml/kg. Estes volumes foram administrados através da torneira de três vias associadas ao cateter de Swan-Ganz colocado na veia jugular externa.

As infusões de propofol e remifentanil foram mantidas por uma hora, após o final da reposição volémica, ao fim da qual os animais foram eutanasiados, com recurso a cloreto de potássio intravenoso, tendo sido colhidas amostras para análise histopatológica posterior.

3.3.1. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Após eutanásia dos animais foram recolhidas amostras de todos os órgãos, sendo que, no presente estudo foram contempladas apenas amostras da porção descendente do duodeno, jejuno médio e íleo, três centímetros proximais à abertura íleo-cecal. O mesentério foi removido das amostras e cada segmento foi aberto ao longo do seu comprimento, enxaguado suavemente

numa solução de cloreto de sódio a 0,9% e imediatamente fixado com recurso a formol tamponado a 10%, por um período não superior a 48 horas.

A fixação consistiu na colocação das amostras obtidas num líquido fixador que insolubiliza as proteínas celulares responsáveis pela estrutura das células e dos tecidos, permitindo-lhes manter a sua forma e estrutura, bem como a sua composição química, o mais próximo possível do estado vivo.

Após a fixação das amostras, efetuou-se a o processamento de tecidos, o qual culmina com a impregnação do corte por um material capaz de lhe conferir uma consistência rígida, tendo sido usada a parafina.

No processamento ocorreu a desidratação dos tecidos, que consistiu na remoção do fixador aquoso, utilizando concentrações crescentes de álcool, a diafanização dos tecidos, que consistiu na utilização de um solvente orgânico intermediário, o xilol, o qual provoca também a clarificação dos tecidos. No final do processamento ocorreu então a impregnação propriamente dita, em parafina e previamente fundida, a uma temperatura aproximadamente de 60°C. O calor provocou a evaporação do xilol e os espaços intratecidualares foram preenchidos pela parafina que os endureceu (Figura 30 – A).

Após a realização do processamento dos tecidos foi realizada a inclusão dos tecidos (Figura 30 – B). Neste processo os tecidos foram definitivamente envolvidos em parafina, utilizando moldes metálicos retangulares cheios de parafina fundida, posteriormente arrefecidos, o que permitiu a obtenção de blocos de parafina com os tecidos no seu interior (Figura 30 – C).

Os blocos rígidos de parafina foram então levados a um micrótomo, no qual são encaixados, orientados e seccionados por uma lâmina de aço, resultando um conjunto de cortes unidos – ténia, com aproximadamente 3 μ m de espessura (1 μ m = 0,001mm) (Figura 30 - D).

De forma a corrigir o enrugamento resultante da pressão provocada pelo corte, os cortes foram colocados em banho-maria, a 42°C, para distenderem (Figura 30 – E). As secções flutuantes foram depois recolhidas para uma lâmina de vidro à qual aderem por efeito da secagem.

Por fim as secções histológicas foram submetidas a um banho de xilol durante 15 minutos para desparafinação, tendo-se em procedido seguidamente à passagem por concentrações decrescentes de álcool para hidratação,

começando com o álcool a 100%, durante 10 minutos e, posteriormente 5 minutos em cada um dos restantes (96%, 80% e 70%) (Figura 30 – F).

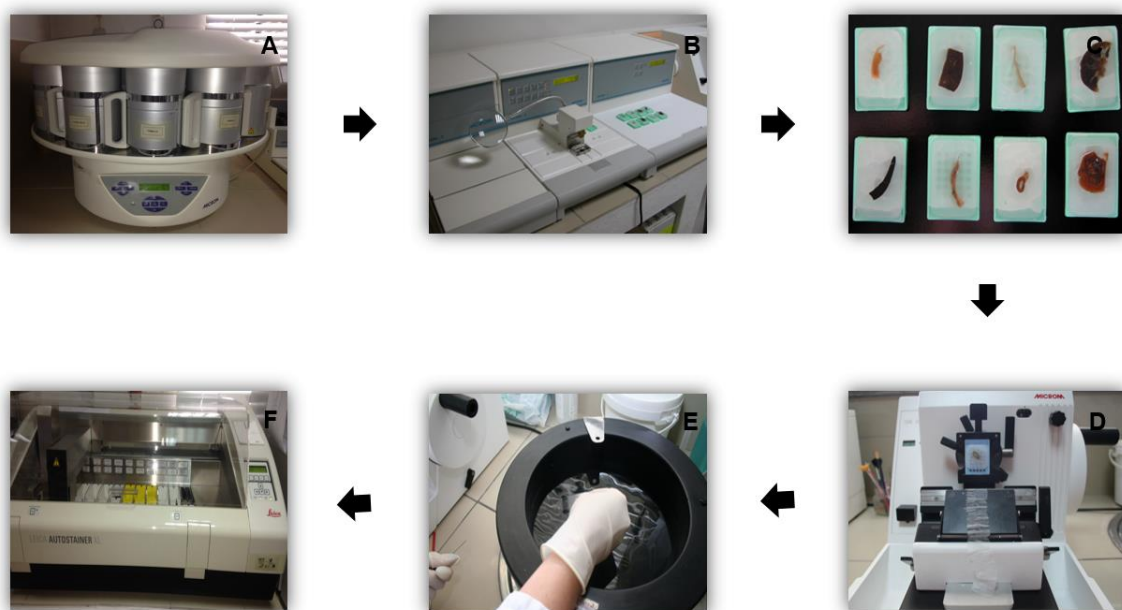


Figura 29. Análise histopatológica. A – Processador. Equipamento que realiza, de modo automático, os passos de desidratação, diafanização e impregnação; B – Bancada de inclusão; C – Blocos de parafina com tecidos incluídos no interior; D – Corte de blocos de parafina no micrótomo; E – Secções "enrugadas" colocadas em banho-maria; F – Equipamento que realiza, de modo automático o processo de desparafinação e hidratação das secções histológicas, adaptado Labpat.

Os cortes histológicos destinados às técnicas imunohistoquímicas, foram submetidas à inibição da peroxidase endógena com peróxido de hidrogénio (H_2O_2) a 3% em metanol, por um período de 30 minutos, à temperatura ambiente, sob agitação contínua.

Após a realização da inibição da peroxidase endógena, foram realizadas 3 lavagens em solução tampão TBS (Tris Buffered Saline, pH=7,4).

3.3.1.1.C

OLO

RAÇ

ÃO

DE

HEM

ATO

XILIN

A E

EOSI

NA

Após a hidratação, os cortes foram submetidos a uma solução corante básica/ corante nuclear – hematoxilina de Harris – durante 8 minutos, seguindo-se uma lavagem em água tépida, durante 10 minutos. Foi usada eosina alcoólica a 1 % como corante contraste, na qual permaneceram durante 6 minutos (Figura 31).

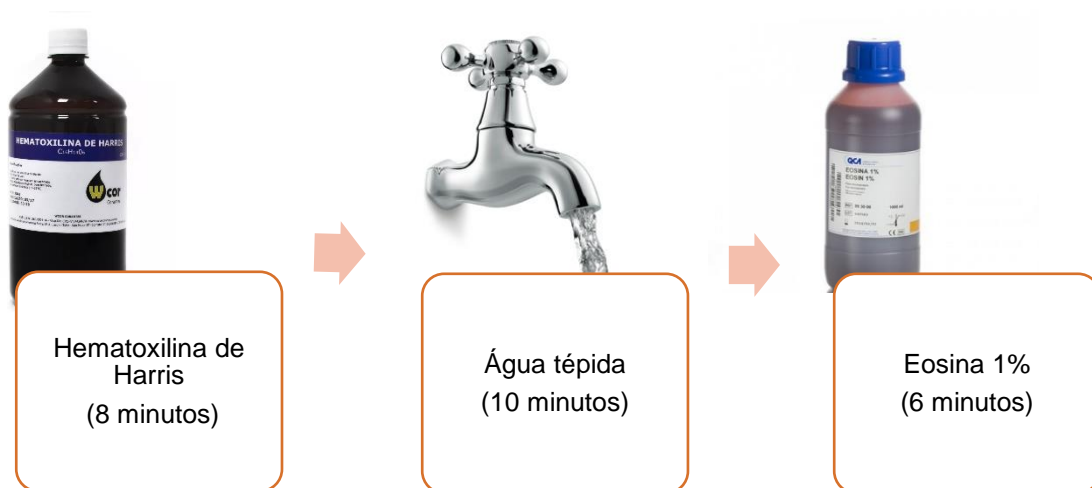


Figura 30. Coloração de rotina com hematoxilina e eosina.

Para finalizar, os cortes passaram pelo procedimento inverso ao inicial, a fim de desidratarem novamente. Duas passagens por álcool a 96%, uma com a duração de 10 minutos, a outra de 5 minutos, em seguida por álcool a 100%, também 2 ciclos de 5 minutos, e para concluir um ciclo de 5 minutos em xilol (Figura 32).

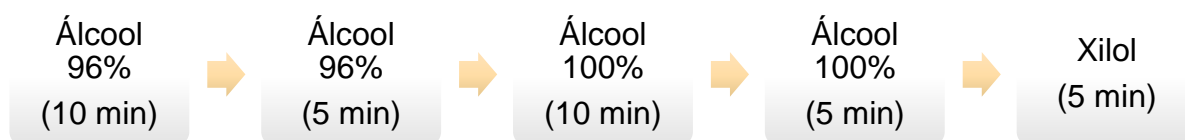


Figura 31. Processo de desidratação.

No final do processo as preparações foram montadas com recurso a um meio de montagem permanente (Entellan®) e lamelas.

Todas as secções histológicas coradas por H&E foram observadas por dois patologistas independentes para avaliação de diversas variáveis morfológicas, que incluíram: congestão, hiperémia, hemorragia, degenerescência celular, infiltrado inflamatório, edema, classificação de descamação epitelial e necrose.

A detecção do citocromo C citosólico é utilizada para identificar células em apoptose, uma vez que este é um fator necessário para a ativação da apoptose. O citocromo c localiza-se no espaço mitocondrial intermembranário, quando a célula entra em stress oxidativo, decorrente de uma situação de hipoperfusão, vai ocorrer a transição de permeabilidade da mitocôndria, resultando na libertação de citocromo c e na consequente ativação da via mitocondrial de apoptose.

A avaliação da presença do citocromo c citosólico foi feita por imunohistoquímica, utilizando o anticorpo Cytochrome C (C20): sc-8385 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.), através do complexo estreptavidina-biotina (Immuno Cruz TM goat LSAB Staining System: sc-2053).

O tratamento de recuperação antigénica foi executado em microondas, com uma solução de tampão citrato de pH 6,0. Foram realizados 3 ciclos, dois de 5 minutos e um de 3 minutos a uma potência de 850 W, sendo que, entre cada ciclo, foi feito um breve arrefecimento (Figura 33).



Figura 32. Tratamento de recuperação antigénica para citocromo c.

Entre cada ciclo foi adicionado uma pequena quantidade de água destilada, de modo a evitar a secagem das lâminas. Ao fim dos 3 ciclos, foi feito um arrefecimento de 25 minutos, após o qual se realizaram três lavagens em tampão TBS. Efetuou-se a secagem da área ao redor da amostra e delimitação

do tecido com uma barreira hidrofóbica, para evitar o vazamento da solução aplicada posteriormente.

As preparações foram colocadas em câmara húmida vertical, à temperatura ambiente, tendo-lhes sido aplicadas 2 gotas de solução de bloqueio de soro, por um período de 10 minutos.

No final desse período, foi feita a incubação do anticorpo primário (Cutochrome c (C20): sc-8385), a uma diluição de 1:1500, deixando-se a incubar durante toda a noite (overnight), à temperatura ambiente. A diluição foi realizada utilizando uma solução de diluição para anticorpos (Diluyente de anticorpo, Zytomed).

Posteriormente, foram efetuadas 3 lavagens em solução tampão TBS, durante 5 minutos, seguindo-se a incubação do anticorpo secundário biotinilado, por um período de 30 minutos, à temperatura ambiente.

Removeu-se o anticorpo secundário com 3 lavagens de 5 minutos com TBS, a seguir à qual se fez a incubação do complexo enzimático estreptavidina biotina, por um período de 10 minutos, com novos 3 ciclos de lavagem de 5 minutos com TBS no final da mesma.

A revelação foi efetuada com substrato DAB durante 5 minutos, à temperatura ambiente, tendo sido interrompida através da imersão em solução tampão e posterior lavagem em água tépida durante 10 minutos.

O protocolo realizado na técnica imunohistoquímica de citocromo C está descrita na figura 34.

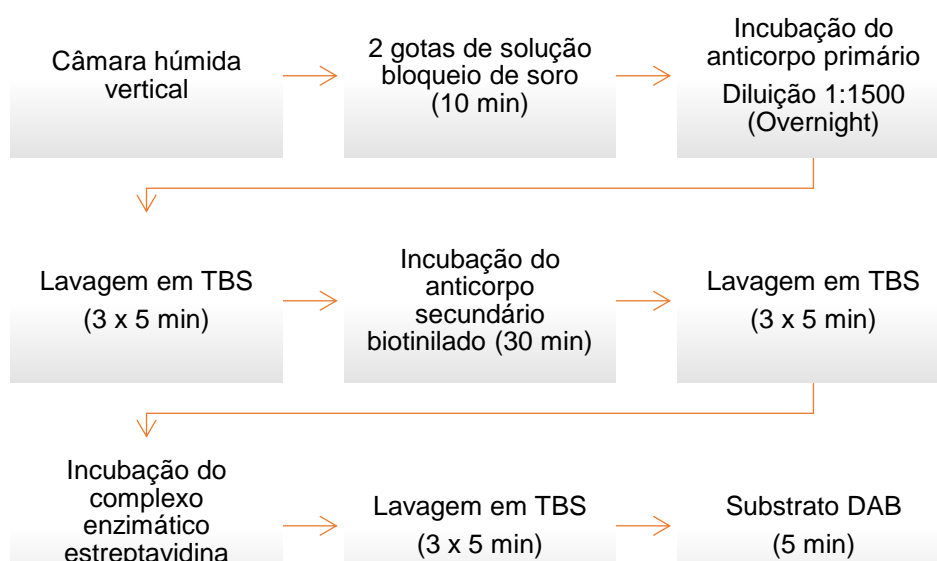


Figura 33. Protocolo realizado na técnica imunohistoquímica de citocromo C.

Por último, foi feita a desidratação (Figura 32) e montagem das lâminas, num processo igual ao utilizado na coloração de rotina H&E.

3.3.1.3. T

UNE

L

O método TUNEL (Terminal Dupt Nick End-Labeling) deteta a fragmentação do DNA das células que ocorre nos estágios tardios da apoptose. Neste estudo, o tecido intestinal foi coletado aproximadamente 90 minutos após o estímulo apoptótico. Sendo assim, a possibilidade da ocorrência da fragmentação do DNA durante este período de estudo é limitada.

A detecção da apoptose com base na capacidade enzimática da deoxinucleotidil transferase terminal (TdT) para catalisar uma adição independente de modelo de trifosfato de nucleótidos às extremidades 3' – OH de DNA de cadeia dupla ou de cadeia simples foi realizada neste estudo, utilizando o In Situ Cell Death Kit Detection, POD (Cat. No. 168817910, Roche, Manheim, Germany), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante.

Neste protocolo, à semelhança do que foi feito na técnica citocromo c, o tratamento de recuperação antigénica foi executado em microondas, com uma solução de tampão citrato de pH 6,0 (Figura 6).

Foram também realizados dois ciclos de 5 minutos e um ciclo de 3 minutos a uma potência de 850 W, sendo que entre cada ciclo foi feito um breve arrefecimento, adicionando uma pequena quantidade de água destilada, de modo a evitar a secagem das lâminas. Após o final dos três ciclos, foi feito um arrefecimento de 25 minutos, após o qual se realizaram 3 lavagens em tampão TBS, efetuou-se a secagem da área ao redor da amostra e delimitação do tecido com uma barreira hidrofóbica, para evitar o vazamento da solução aplicada posteriormente.

As lâminas foram colocadas em câmara húmida horizontal, onde foram encubadas com 100 µl de solução enzimática (TdT) (a diluição ideal para esta mistura enzimática foi de 1: 2,5) por um período de 90 minutos a 37 °C. O passo de incubação com a mistura de TdT não foi realizada no controle negativo, este foi submetido ao tratamento com solução rótulo.

Posteriormente, foram realizadas 3 lavagens em solução tampão, com a duração de 5 minutos cada. No final das lavagens foi feita uma nova incubação, desta vez com a solução Converter-POD (anticorpo antilfluoresceína, fragmento Fab de ovelha), durante 10 minutos, à temperatura de 37°C, também em câmara húmida. No final desta incubação, foram feitas cinco lavagens de 5 minutos com solução tampão. Nesta etapa foi possível a observação da reação da imunoperoxidase por microscopia de luz.

Para concluir a técnica, foi feita a revelação com substrato DAB, por um período de 5 minutos, à temperatura ambiente. Findo este tempo, a reação foi terminada com recurso a lavagem com solução tampão e, posteriormente, lavagem abundante com água tépida (Figura 35).

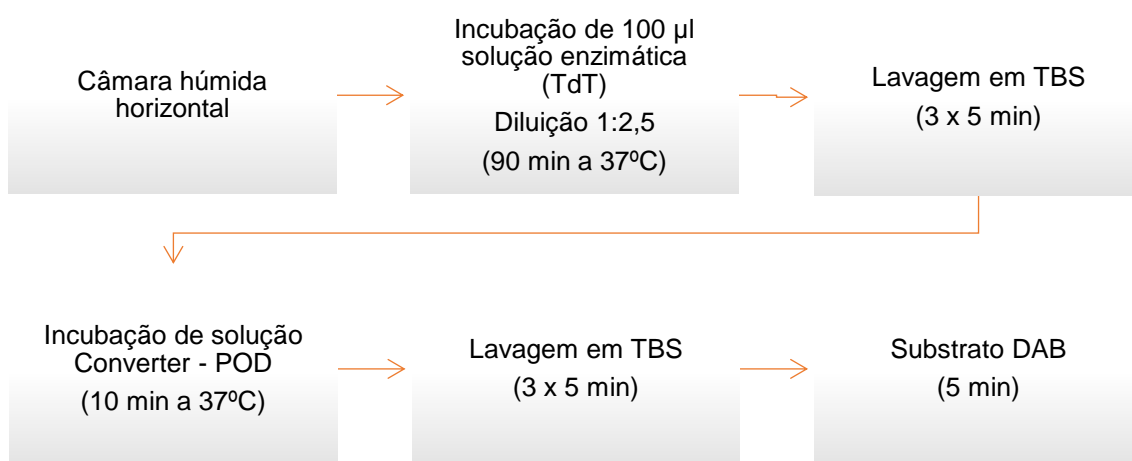


Figura 34. Protocolo realizado na técnica imunohistoquímica de TUNEL.

A coloração nuclear de contraste foi feita com hematoxilina de Harris por um período de 10 minutos, seguida de lavagem em água corrente durante mais 10 minutos. Para terminar o processo foi efetuada a desidratação em banhos de álcool, em concentrações crescentes, e montagem das lâminas à semelhança do realizado para a H&E (Figura 32).

3.3.1.4. M

30

O ensaio da imunofluorescência M30 CytoDeath® Fluorescein (Roche, Mannheim, Germany) foi utilizado neste estudo, como método complementar para

a detecção da apoptose, tendo sido ligeiramente ajustado ao caso específico do tecido utilizado neste estudo, com a colaboração do protocolo do fabricante.

O anticorpo M30 é constituído por um anticorpo monoclonal de rato (anticorpo monoclonal, clone M30, IgG2b, rato) que interage com o neoepítipo que se forma após a clivagem da citoqueratina 18 por parte da caspase, durante o processo de apoptose. Este anticorpo não marca células vivas, uma vez que nestas, o neoepítipo de citoqueratina 18 não é detetável, sendo que células viáveis ou necróticas vão ser negativas ao teste.

O tratamento de recuperação antigénica foi feito com recurso ao microondas, tal como nas técnicas anteriores, usando solução de tampão citrato de pH 6,0. No entanto, foram feitas algumas alterações ao tempo e potência utilizados. Inicialmente, o tampão citrato foi pré-aquecido no microondas a 850 W, até entrar em ebulição, após a qual foram induzidos os cortes de tecido no tampão e este colocado novamente à mesma potência no microondas (850 W) até nova ebulição. Assim que este ponto foi atingido, diminuiu-se a potência do microondas para 100 W e deixou-se incubar durante 15 minutos. No final, deixou-se arrefecer a solução tampão por 5 minutos à temperatura ambiente (Figura 36).

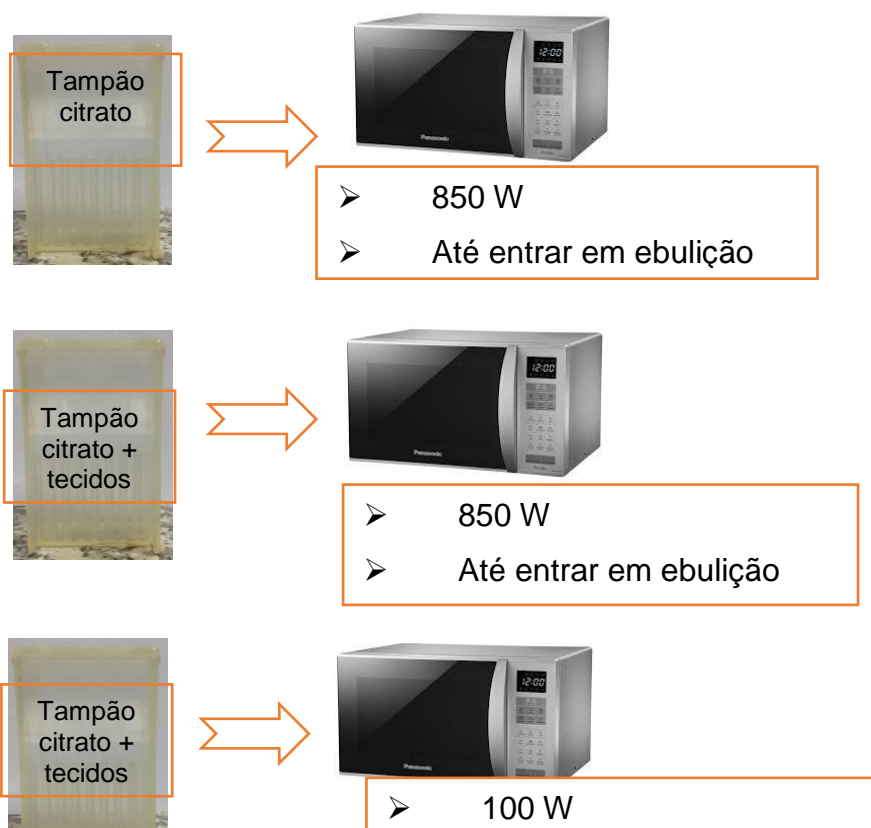


Figura 35. Processo de recuperação antigénica para uso do anticorpo M30.

Após o arrefecimento, foram feitas 3 lavagens em solução tampão PBS, deixando-se no final incubar nesse mesmo tampão durante 2 minutos. Em seguida foram bloqueadas as secções de tecido com solução de bloqueio, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Removeu-se o tampão de incubação no final do tempo e adicionaram-se 100 µl da solução com o anticorpo e deixou-se incubar durante 60 minutos, em câmara húmida, à temperatura ambiente. Terminada a incubação, foram feitas cerca de 30 lavagens com tampão de lavagem (Figura 37).

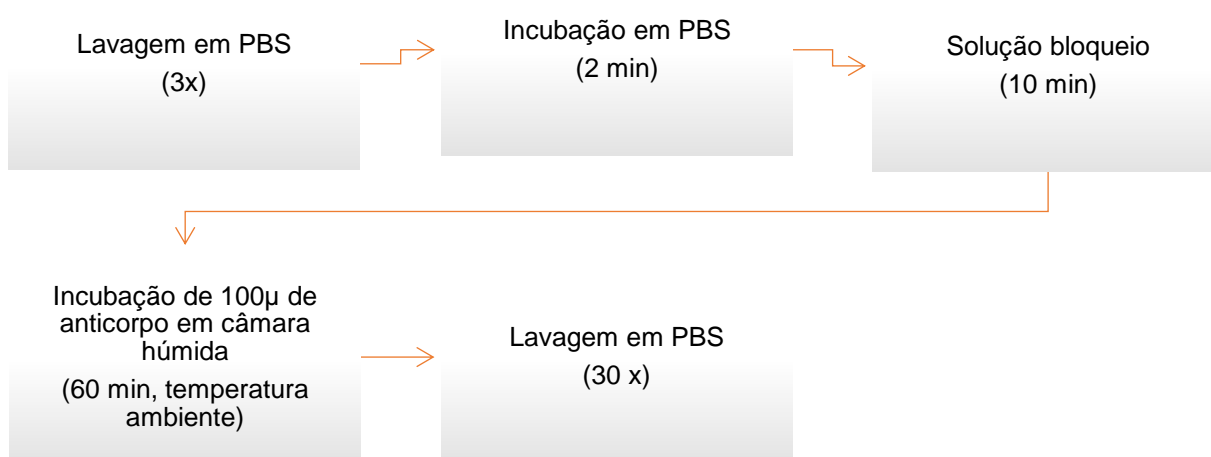


Figura 36. Processo de incubação do anticorpo M30.

No final destas lavagens, as lâminas foram montadas com uma solução própria para imunofluorescência e observadas ao microscópio.

3.3.1.5. O

BSE

RVA

ÇÕE

S

Todas as secções histológicas foram avaliadas através da observação com o microscópio Zeiss Axioplan 2 e as imagens foram adquiridas através da camera digital microscópica Leica DFC450, nos casos das técnicas de hematoxilina e eosina, citocromo c e TUNEL, ou através da camera digital microscópica Axiocam MRM VER 3, no caso da técnica M30. O processamento

das imagens foi efetuado com o software LAS Advanced Analysis (Bundle No: 12730448) e Zen 2012 (Host ID: 16546675564), respetivamente.

Todas estas variáveis morfológicas analisadas com recurso à coloração de H&E foram semiquantificadas numa escala de 0 a 3, em que 0 corresponde à ausência da lesão, 1 à sua presença discreta ou focal, 2 à sua presença

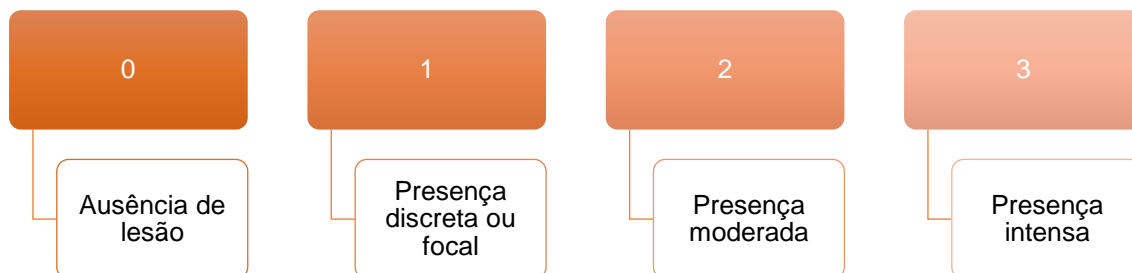


Figura 37. Escala semiquantificativa usada na técnica H&E.

moderada e 3 corresponde à sua presença intensa (Figura 38). No final foi atribuído um score a cada lâmina, isto é, o somatório de todas as variáveis analisadas (Quirezze *et al.*, 2006; Figueira, 2007).

As lesões da mucosa foram classificadas com base na sua severidade, de acordo com Chiu *et al.*, (1970), variando de grau 0 – mucosa normal – até grau 5 – desintegração da lâmina própria, com presença de hemorragia e úlceras (Figura 39). No final foi atribuído um score a cada lâmina, isto é, o somatório de todas as variáveis analisadas.

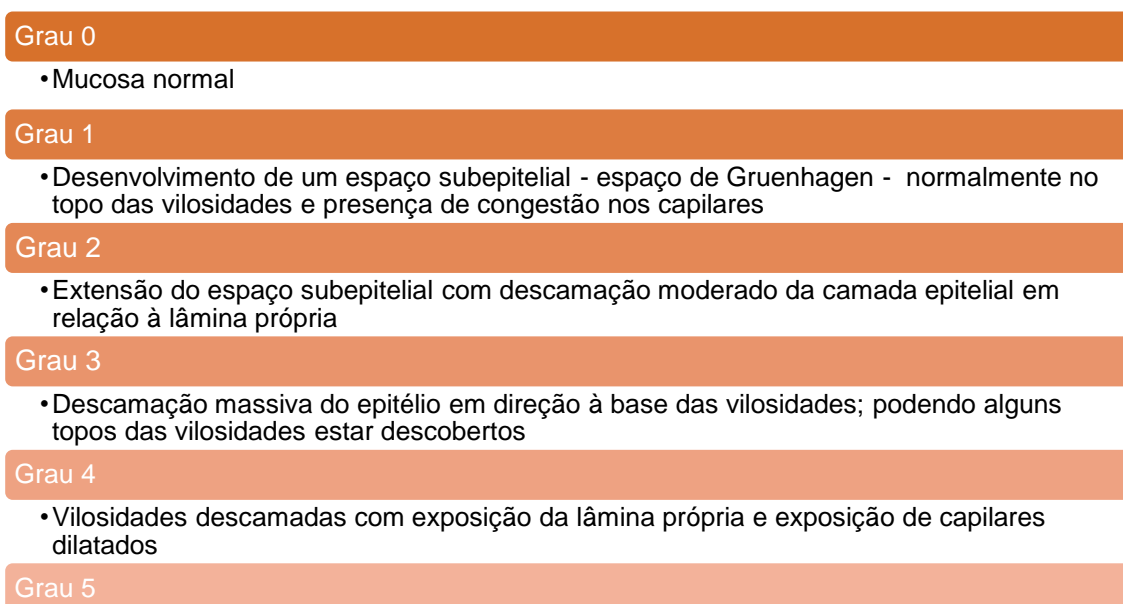


Figura 38. Escala de diversos Graus de lesão de mucosa (Adaptado de Chiu *et al.*, 1970).

A reação obtida com as técnicas de Citocromo C, TUNEL e M30 foi avaliada por dois patologistas independentes, os quais fizeram uma análise semiquantitativa da mesma, tendo sido delineada uma escala com 5 níveis, sendo que: 0 – ausência de reação; 1 – reação débil; 2 – reação moderada; 3 – reação intensa; 4 – reação muito intensa (Figura 40), de acordo com Cheg *et al.*, 2011 e Fedchenko & Reifenrath, 2014 esta escala foi designada quickscore (Q-score), baseando-se na quantidade de células positivas e na intensidade da reação, na totalidade da lâmina em estudo (Quadro 15).

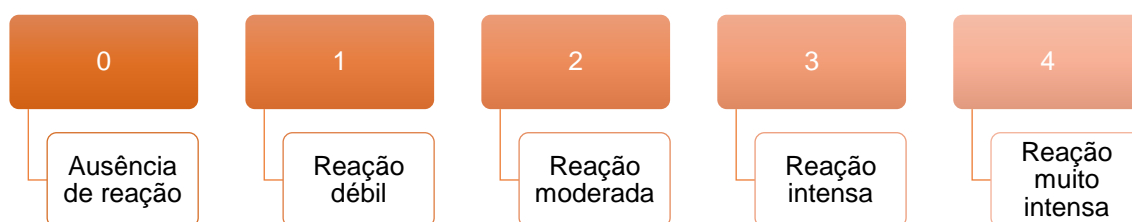


Figura 39. Escala semiquantitativa, utilizada nas técnicas Citocromo C, TUNEL e M30 (Adaptado de Cheng *et al.*, 2011).

Quadro 15. Q-Score (Adaptado de Cheg *et al.*, 2011 e Fedchenko & Reifenrath, 2014).

A- % células positivas	B- Intensidade de reação	AxB – Q-score
0 = sem células positivas	0 = não reação	0 – 1 = negativo (0)
1 = < 25%	1 = reação débil	2 – 3 = débil (1)
2= 25 – 50%	2 = reação moderada	4 – 8 = moderada (2)
3 = 50 – 75 %	3 = reação intensa	9 – 12 = reação intensa (3)
4 = > 75 %	4 = reação muito intensa	>12 = reação muito intensa (4)

Posteriormente, nas reações de TUNEL e M30 foi ainda utilizada uma fórmula de cálculo aplicada a 10 campos de maior ampliação (40x) por cada lâmina, tendo por base a quantidade de células positivas e a intensidade da reação obtida, sendo automaticamente atribuído um score a cada animal (H-score), o qual varia entre o 0 e os 400, onde 0 corresponde à ausência de reação na totalidade das células, entre 0 e 100 a um grau lesional baixo, dos 100 aos 200 a um grau lesional médio, entre os 200 e os 300 a um grau lesional elevado. De 300 a 400 corresponde a um grau lesional muito elevado e 400 representa uma reação de intensidade máxima na totalidade das células em avaliação (Detre *et al.*, 1995) (Figura 41 e 42).

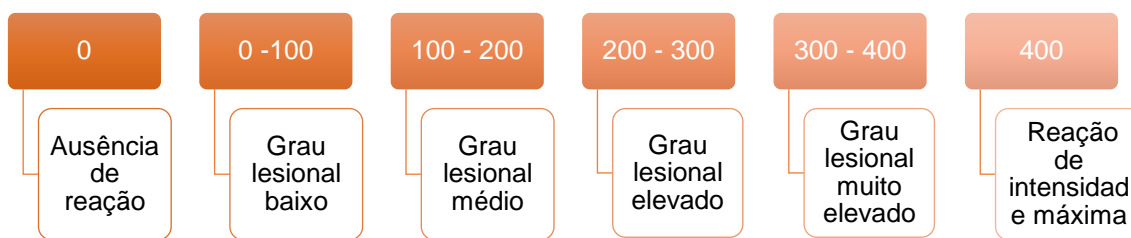


Figura 40. Escala H-Score, utilizada nas técnicas TUNEL e M30 (Adaptado de Detre *et al.*, 1995).

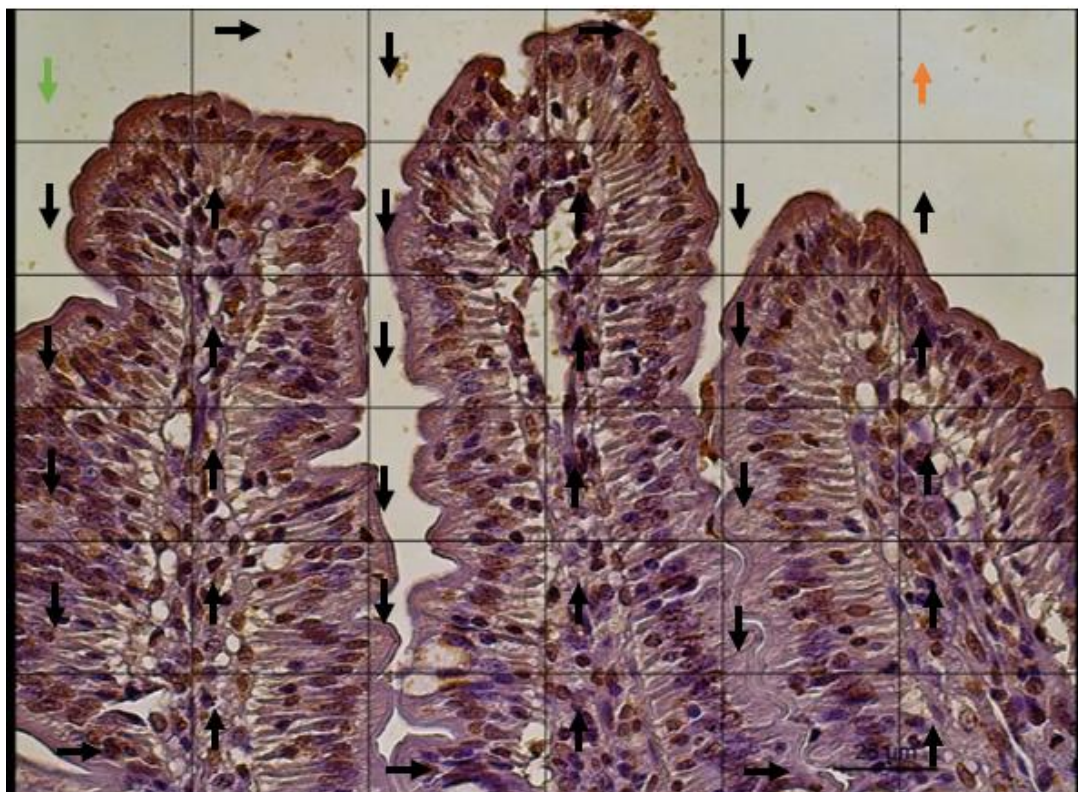


Figura 41. Método de contagem H-Score (Adaptado Pina, 2012).

Nestas técnicas foi ainda avaliado o total de células apoptóticas existentes nos 10 campos selecionados, assim como o índice apoptótico, calculado através da comparação entre o total de células positivas e a totalidade de células contabilizadas (positivas + negativas), sendo este apresentado sob a forma de percentagem. Os resultados foram divididos em quatro intervalos para facilitar a interpretação. Fez-se ainda a contabilização do número de células positivas (apoptóticas) existentes em cada milímetro quadrado de tecido analisado (Kang *et al.*, 2006; Cheng *et al.*, 2014).

3.4. RESULTADOS

3.4.1. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

3.4.1.1. COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA E EOSINA

A avaliação histopatológica do intestino delgado feita com recurso à coloração de rotina de H&E não revelou diferenças significativas entre os animais dos três grupos. Ao avaliar o grau de lesão observado no conjunto de animais de cada grupo podemos, no entanto, encontrar algumas diferenças na expressão de algumas das lesões avaliadas.

Os parâmetros histopatológicos qualitativos como o edema, a congestão, a hiperémia, a hemorragia, a degenerescência celular, a necrose, a inflamação e a descamação epitelial foram registadas nos grupos 1 (LR) (n= 11), 2 (HES) (n= 11) e 3 (Controlo) (n= 6).

O edema (Figura 43 e 44) foi observado em todos os grupos, sendo que o grau de lesão discreta ou focal (grau 1) foi o predominante. Foram também observadas lesões moderadas (grau 2) em todos os grupos. Apenas foi observado um animal com lesão intensa (grau 3), no grupo 2, jejuno.

O edema foi significativamente maior no grupo 1, quando comparado com os grupos 2 e 3 ($P < 0,01$). Ao considerar todo o intestino delgado, os níveis médios de edema foram significativamente maiores nos grupos 1 e 2, quando comparados com o grupo 3 ($P < 0,05$).

Em relação à congestão, o grau de lesão variou de discreta ou focal a intensa (Figura 45), sendo o grau de lesão discreta ou focal (grau 1) predominante em todos os grupos. Foi observado apenas um animal com grau de lesão intensa (grau 3), no grupo 1, duodeno.

Ao avaliar os níveis de congestão em todo o intestino delgado, os níveis médios foram significativamente menores nos grupos 1 e 2, em comparação ao grupo 3 ($P < 0,05$).

A hiperémia no grupo 1 esteve ausente em todos as regiões do intestino, tendo sido apenas observado um animal com lesão discreta ou focal (grau 1) na região do jejuno (Figura 45 – D). Nos grupos 2 e 3 o grau de hiperémia variou de ausente a moderada.

Em relação à hiperémia do intestino delgado, o nível médio nos animais em que a reposição do volume feita com HES 130/0,4 (G2), foi significativamente maior do que nos animais tratados com LR ($P < 0,05$), o mesmo não pode ser confirmado com o grupo 3.

A hemorragia esteve ausente na maioria dos grupos, apenas foi observado um animal do grupo 1, Íleo com lesão moderada (grau 2) e outro animal do grupo 2, também na região do Íleo com lesão discreta ou focal (grau 1). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupos em relação à hemorragia.

Também não foram observadas diferenças significativas em relação à degenerescência celular, em que os níveis de lesão variaram de ausente a intensa em todos os grupos.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação à necrose, tendo sido apenas observada necrose por coagulação discreta ou focal (grau 1) na ponta de uma vilosidade, num animal do grupo 1, região do duodeno.

A inflamação da mucosa intestinal (Figura 46), em todos os grupos e regiões do intestino delgado variou entre moderada a intensa. No duodeno, a inflamação foi significativamente maior nos grupos 1 e 2, em comparação ao grupo 3 ($P < 0,05$). A inflamação no jejuno foi significativamente maior no grupo 2, em comparação ao grupo 3 ($P < 0,05$). Em relação ao intestino delgado inteiro, a inflamação foi significativamente maior no grupo 2, quando comparado ao grupo 3 ($P < 0,05$).

A classificação das lesões histopatológicas observadas com recurso da coloração de rotina H&E encontram-se registadas no quadro 16.

Quadro 16. Classificação de lesões histopatológicas observadas com a coloração de rotina hematoxilina & eosina.

Grau		Grupo 1 (LR)				Grupo 2 (HES)				Grupo 3 (Cont.)			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Edema													
N	Duodeno	1	5	5	0	2	9	0	0	2	4	0	0
	Jejuno	2	8	1	0	2	3	5	1	3	3	0	0
	Íleo	2	8	1	0	1	8	2	0	3	2	1	0
Congestão													
N	Duodeno	7	3	0	1	9	2	0	0	2	1	3	0
	Jejuno	7	4	0	0	9	2	0	0	2	2	2	0
	Íleo	7	2	2	0	4	6	1	0	0	5	1	0
Hiperémia													
N	Duodeno	11	0	0	0	7	3	1	0	5	1	0	0
	Jejuno	10	1	0	0	9	1	1	0	5	1	0	0
	Íleo	11	0	0	0	8	3	0	0	4	2	0	0
Hemorragia													
N	Duodeno	11	0	0	0	11	0	0	0	6	0	0	0
	Jejuno	11	0	0	0	11	0	0	0	6	0	0	0
	Íleo	10	0	1	0	10	1	0	0	6	0	0	0
Degenerescência celular													
N	Duodeno	0	4	4	3	1	2	6	2	1	4	1	0
	Jejuno	4	3	4	0	5	3	3	0	0	4	2	0
	Íleo	7	2	1	1	7	2	2	0	6	0	0	0
Necrose													
N	Duodeno	10	1	0	0	11	0	0	0	6	0	0	0
	Jejuno	11	0	0	0	11	0	0	0	6	0	0	0
	Íleo	11	0	0	0	11	0	0	0	6	0	0	0
Infiltrado inflamatório													
N	Duodeno	0	0	4	7	0	0	3	8	0	0	6	0
	Jejuno	0	1	8	2	0	0	4	7	0	0	6	0
	Íleo	0	2	7	2	0	5	1	5	0	1	5	0

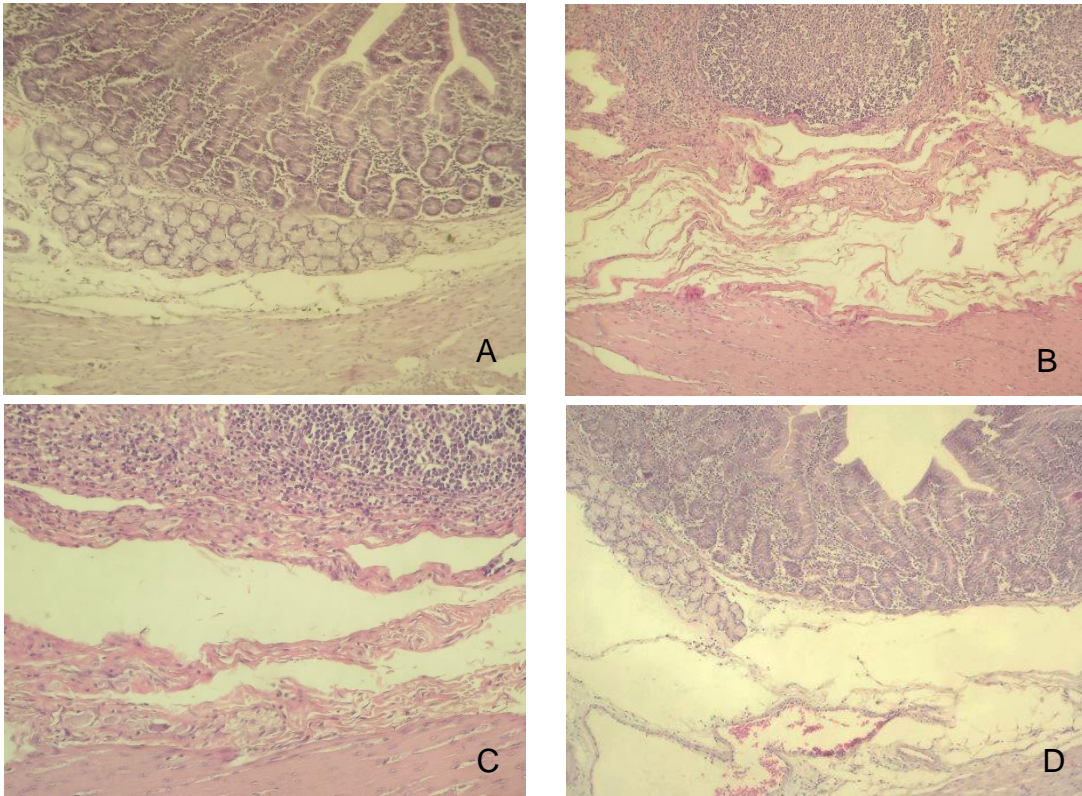


Figura 42. Edema na região da submucosa. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (B, C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 2 (D).

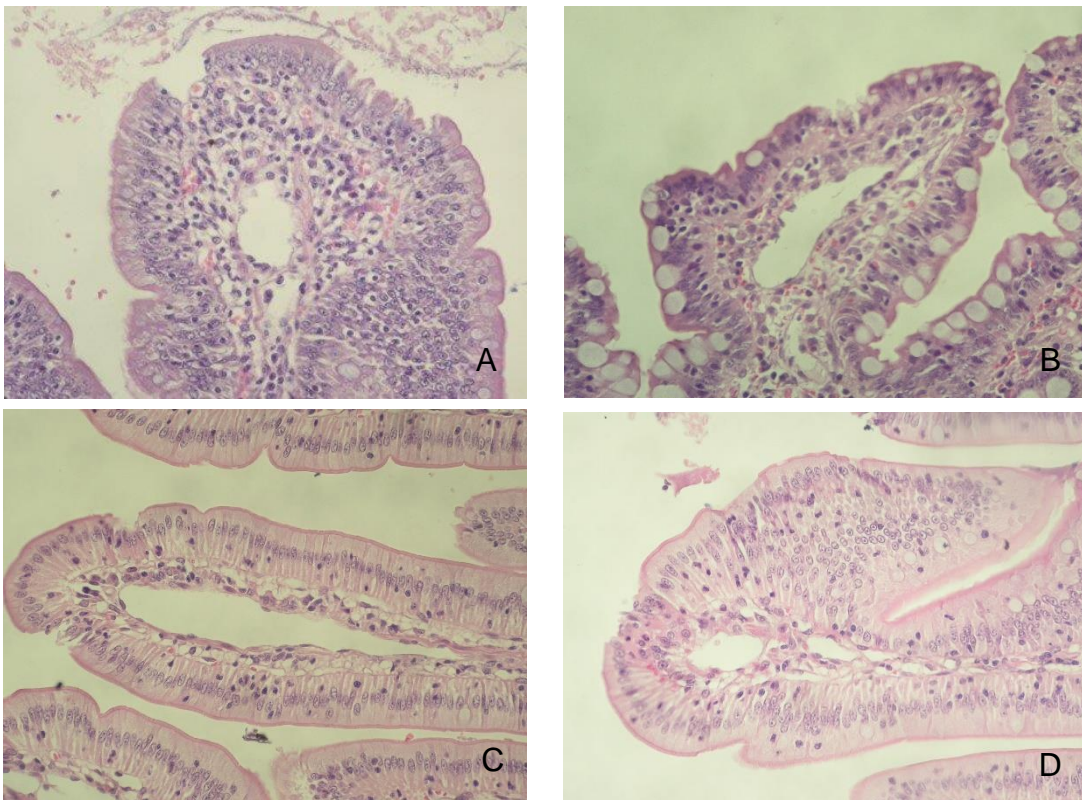


Figura 43. Edema com presente dilatação dos quilíferos. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A); reação débil (grau 1) num animal do grupo 1 (B); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 2 (C e D).

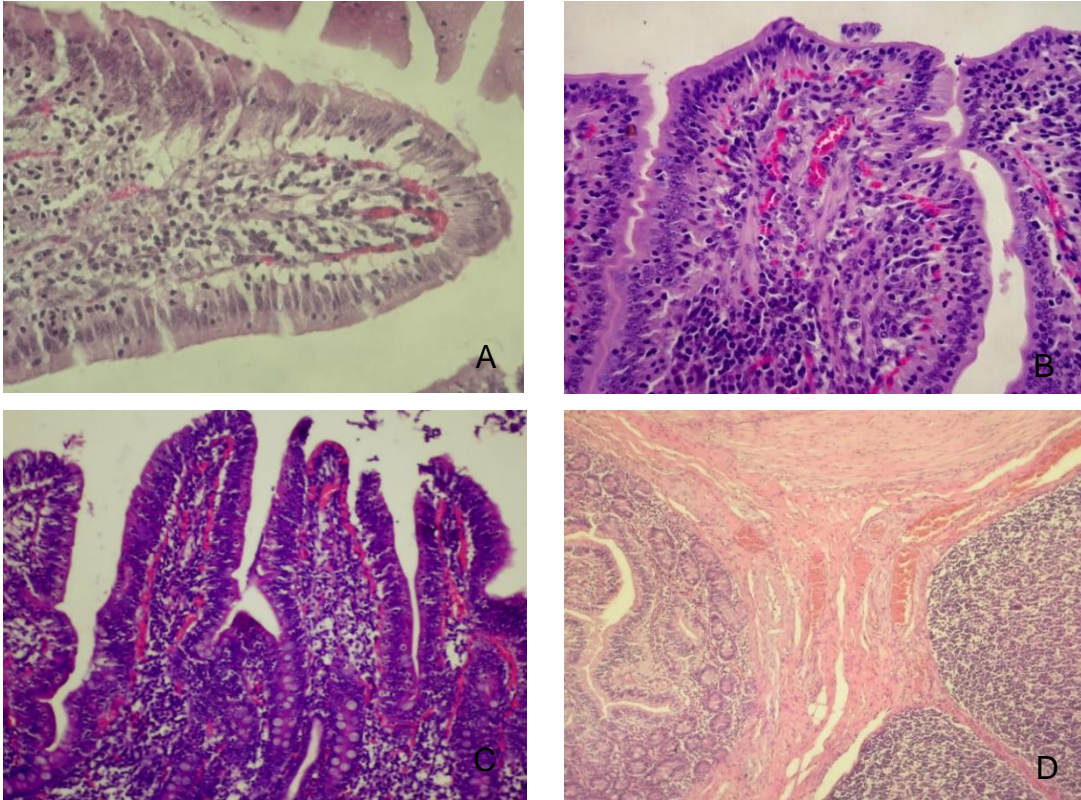


Figura 44. Congestão. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo controlo (B); Reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (C); reação débil (grau 1) com presença de hiperémia de reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (D).

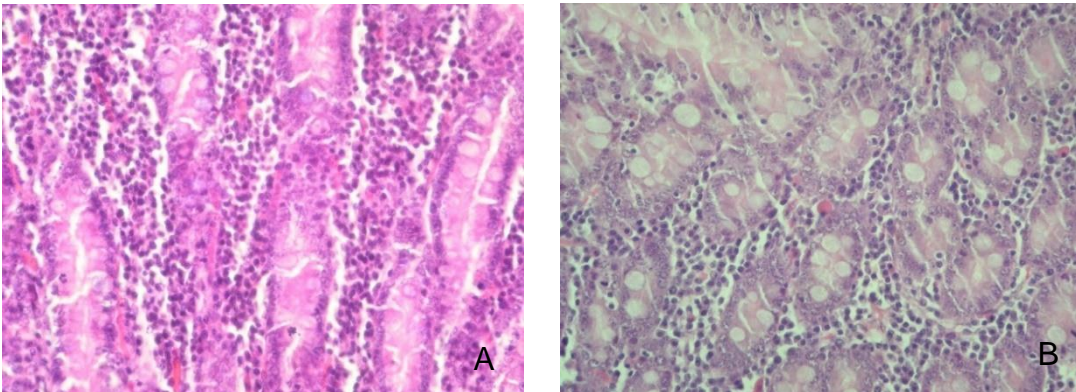


Figura 45. Inflamação. Infiltrado inflamatório mononuclear e presença de congestão, reação moderada (grau 2) num animal do grupo 3 (A); infiltrado inflamatório mononuclear, reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (B).

A descamação do epitélio (Quadro 17), foi registado nos graus lesionais 1, 2, 3 e 4 (Figura 47), apenas não foram observadas lesões de grau 5, e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupos.

Quadro 17. Classificação das lesões de descamação.

Grau		Grupo 1 (LR)					Grupo 2 (HES)					Grupo 3 (Cont,)							
		0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Descamação do epitélio																			
n	Duodeno	0	2	4	3	2	0	1	2	5	3	0	0	2	1	2	0	1	0
	Jejuno	3	5	2	1	0	0	5	4	2	0	0	0	3	2	0	1	0	0
	Íleo	5	4	2	0	0	0	7	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0

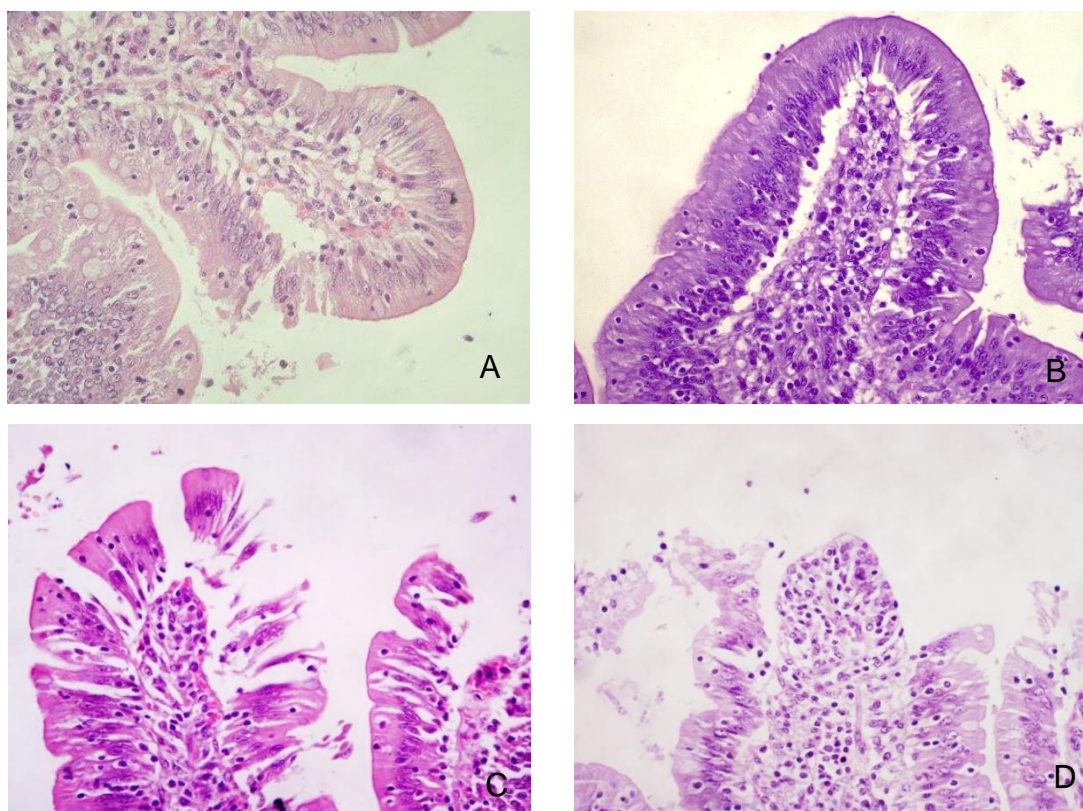


Figura 46. Descamação epitelial. Reação débil (grau 1), num animal do grupo controlo (A e B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (D).

3.4.1.2. C

ITOC

ROM

O C

A imunorreatividade ao anticorpo Citocromo C foi avaliada em seis animais de cada grupo, para o duodeno, jejuno e íleo. O grau de intensidade da imunorreatividade citoplasmática ao anticorpo Citocromo C variou de reação fraca (grau 1) a reação muito intensa (grau 4), em todas as regiões intestinais (Figuras 48, 49 e 50).

Em relação à intensidade de marcação observada no epitélio das vilosidades, no grupo 1 a intensidade média de coloração foi intensa (grau 3) para o duodeno, moderada a intensa (grau 2,5) para o jejuno e intensa (grau 3) para o íleo.

No grupo 2, a intensidade média foi intensa (grau 3) para o duodeno e jejuno e reação moderada a intensa (grau 2,5) para o íleo.

No grupo 3, a intensidade média foi moderada (grau 2) para o duodeno e jejuno e intensa (grau 3) para o íleo.

Em relação ao intestino delgado inteiro, a intensidade de marcação foi intensa (grau 3) no grupo 1, moderada a intensa (grau 2 e 3) no grupo 2 e moderada (grau 2) no grupo controlo (grupo 3).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Nos quadros 18, 19, 20 e 21 estão representadas as médias do Q-score das regiões do intestino delgado, bem como o intestino delgado inteiro nos diferentes grupos.

Quadro 18. Média Q-Score região duodeno.

Duodeno	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	4	3	4	4
Média	2,16						3						3,3					

Quadro 19. Média Q-Score região jejuno.

Jejuno	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	3	2	3	2	1	1	2	3	2	2	2	4	3	3	3	2	2	1
Média	2						2,5						3,3					

Quadro 20. Média Q-Score região íleo.

Íleo	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	2
Média	3,16						3,16						2,5					

Quadro 21. Média Q-Score Intestino delgado.

ID	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	3	2	3	2	1	2	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	2
Média	2,16						3						2,5					

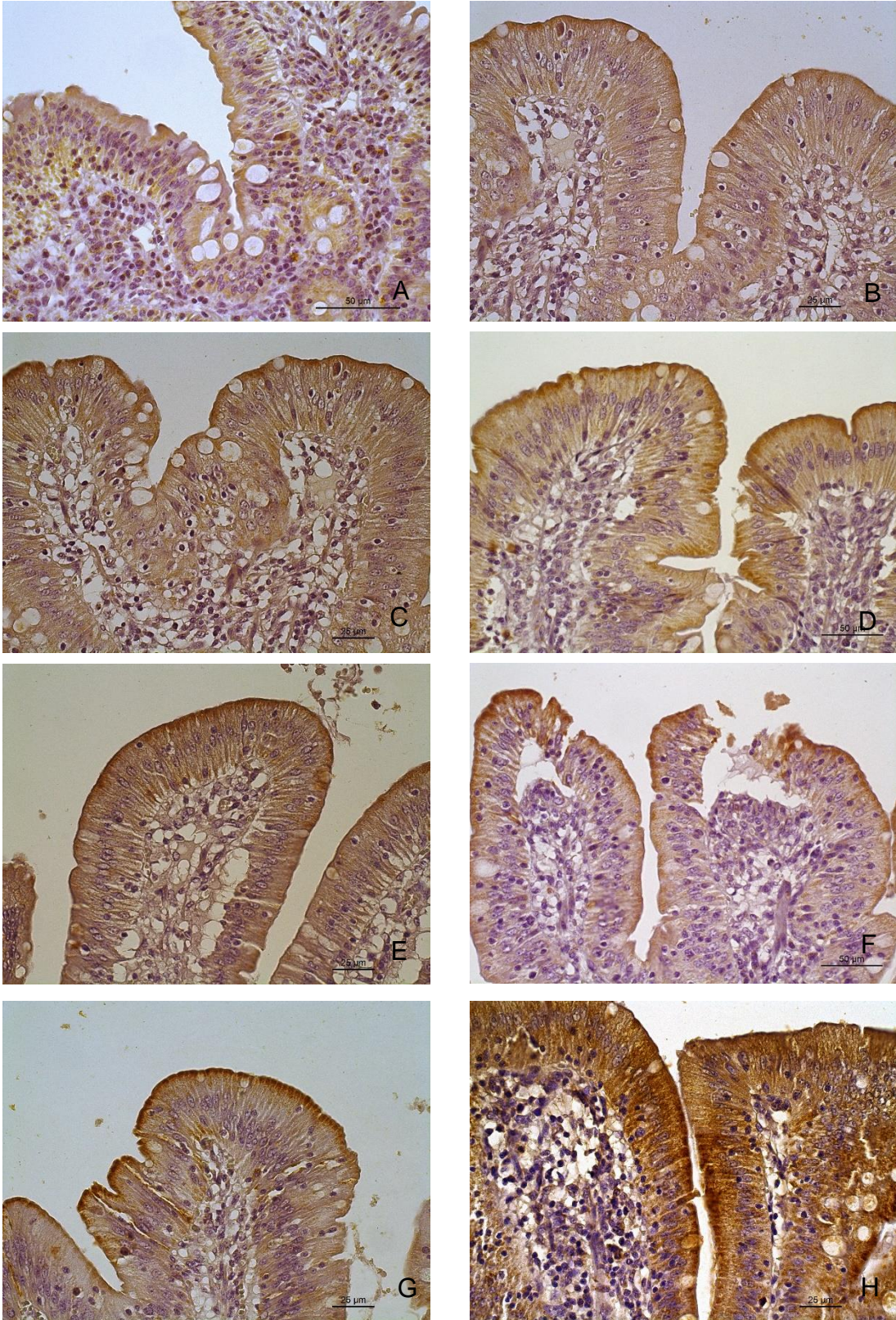


Figura 47. Citocromo C, região duodeno. Reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (A), e num animal do grupo controle (B e C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (D e E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2 (G e H).

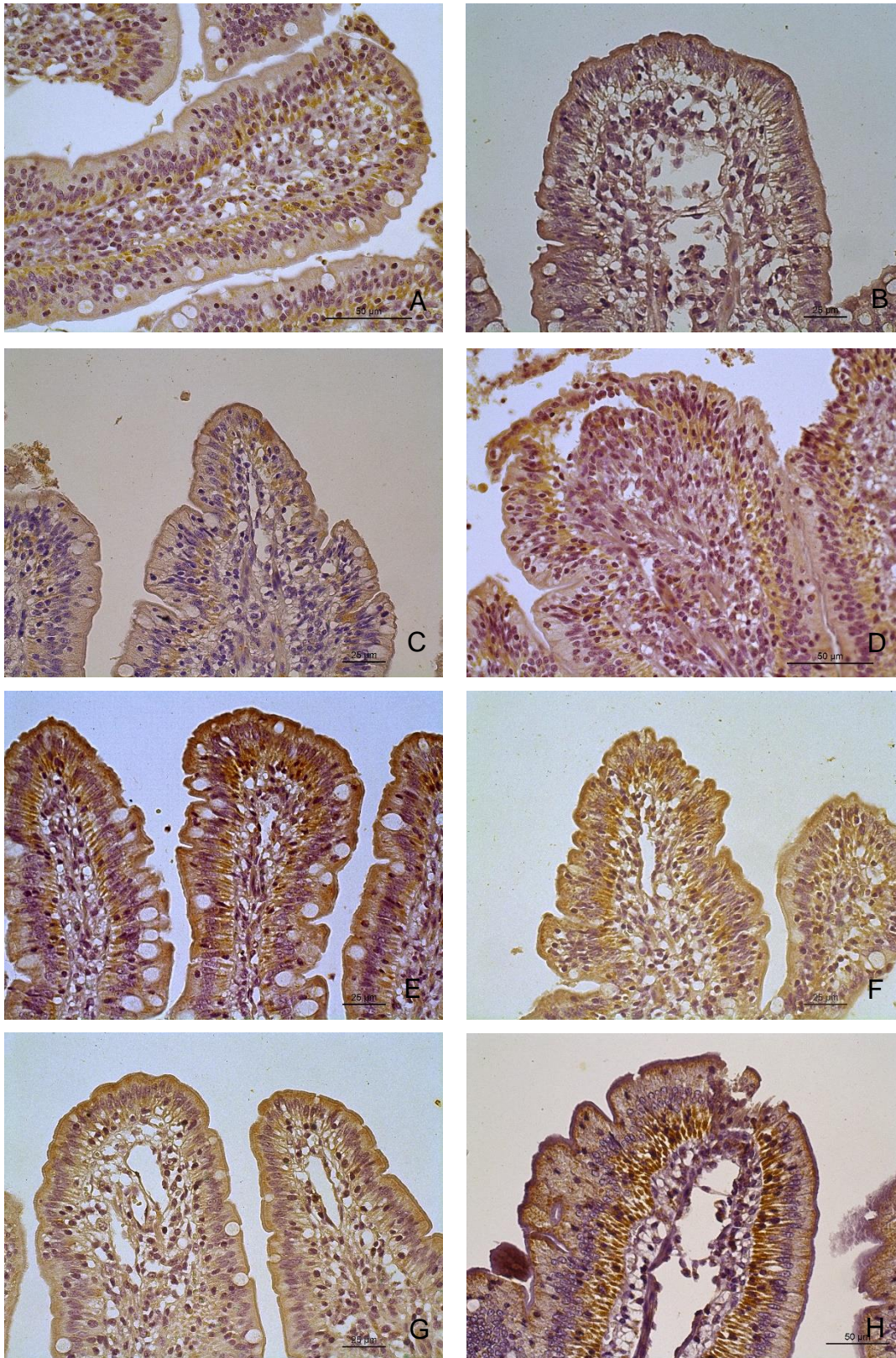


Figura 48. Citocromo C região jejuno. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (C) e num animal do grupo 2 (D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo controlo (E), num animal do grupo 1 (F) e num animal do grupo 2 (G); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2.

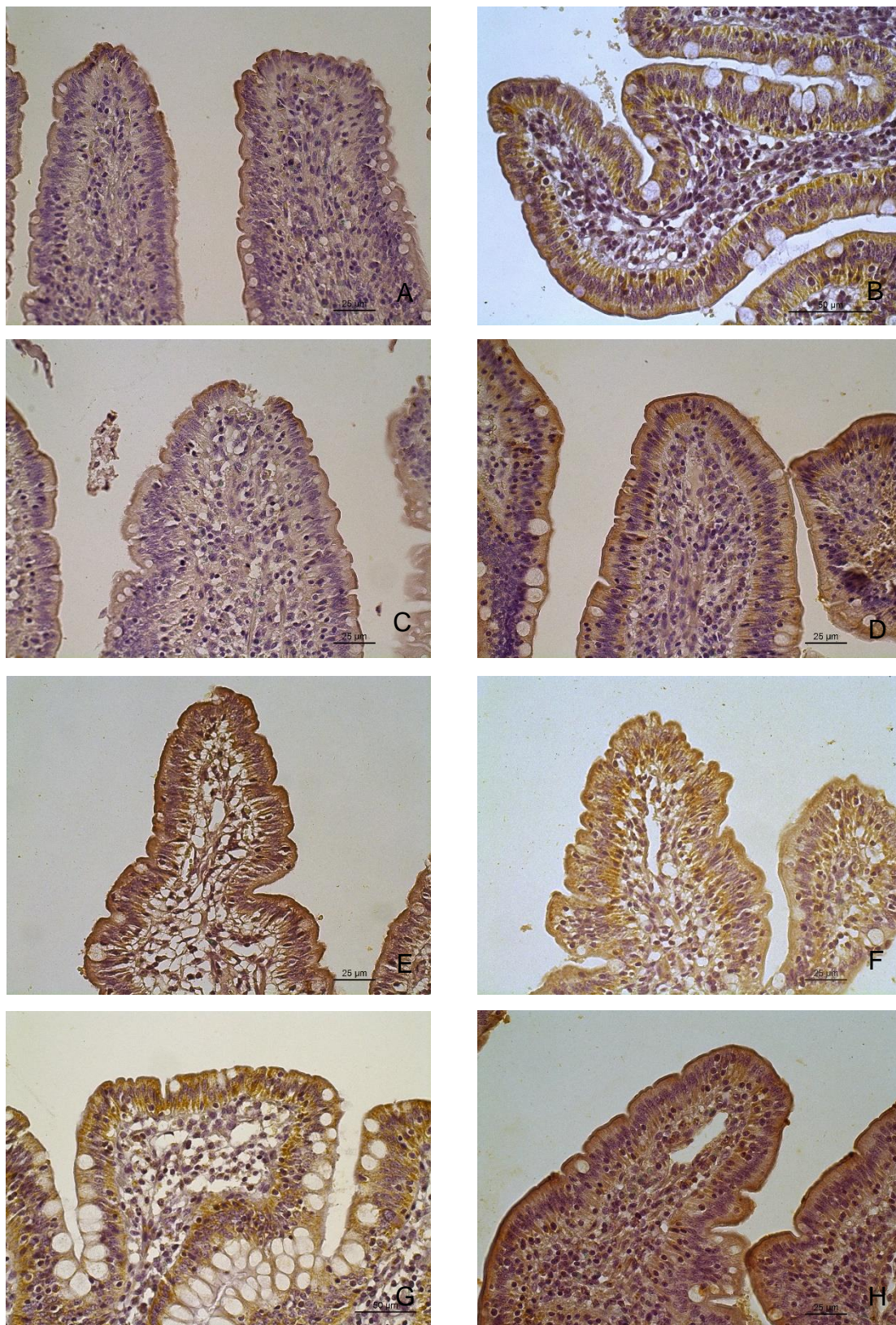


Figura 49. Citocromo C região íleo. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (B) e num animal do grupo 2 (C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo controle (D) num animal do grupo 1 (E) e num animal do do grupo 2 (F); reação muito intensa num animal do grupo controle (G) e num animal do grupo 1 (H).

3.4.1.3. TUNEL

A deteção de apoptose pelo método TUNEL foi realizado em seis animais de cada grupo, duodeno, jejuno e íleo.

Foram observados vários animais negativos pelo método TUNEL em todos os grupos. A intensidade de reação nos restantes animais variou de débil (grau 1) a muito intensa (grau 4) (51, 52 e 53).

No grupo 1 a intensidade média de marcação foi moderada (grau 2) para o duodeno e variável de débil a moderada (grau 1 e 2) para o jejuno e íleo.

No grupo 2, a intensidade média de marcação foi variável de moderada a intensa (grau 2 e 3) para o duodeno e moderada (grau 2) para o jejuno e íleo.

No grupo 3, a intensidade média de marcação foi de débil a moderada (grau 1 e 2) para o duodeno, débil (grau 1) para o jejuno e variável de ausente a débil (grau 0 e 1) para o íleo.

Em relação ao intestino delgado inteiro, a intensidade de marcação foi moderada (grau 2) no grupo 1, intensa (grau 3) no grupo 2 e variável de débil a moderada (grau 1 e 2) no grupo controlo (grupo 3).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupos.

Nos quadros 22, 23, 24 e 25 estão representadas as médias do Q-score das regiões do intestino delgado, bem como o intestino delgado inteiro nos diferentes grupos.

Quadro 22. Média Q-Score região Duodeno.

Duodeno	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	0	3	0	3	2	3	4	3	3	3	0	0	0	4	3	3	4	1
Média	1,83						2,33						2,5					

Quadro 23. Média Q-Score região Jejuno.

Jejuno	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	0	0	3	3	0	0	3	0	3	3	0	0	0	3	0	0	4	4
Média	1						1,5						2					

Quadro 24. Média Q-Score região Íleo.

Íleo	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	0	3	2	0	0	0	3	0	1	3	0	3	2	3	3	3	3	0
Média	0,83						1,66						2,33					

Quadro 25. Média Q-Score intestino delgado.

ID	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	0	3	3	3	0	0	3	0	3	3	2	3	2	4	3	3	4	4
Média	1,5						2,33						3,33					

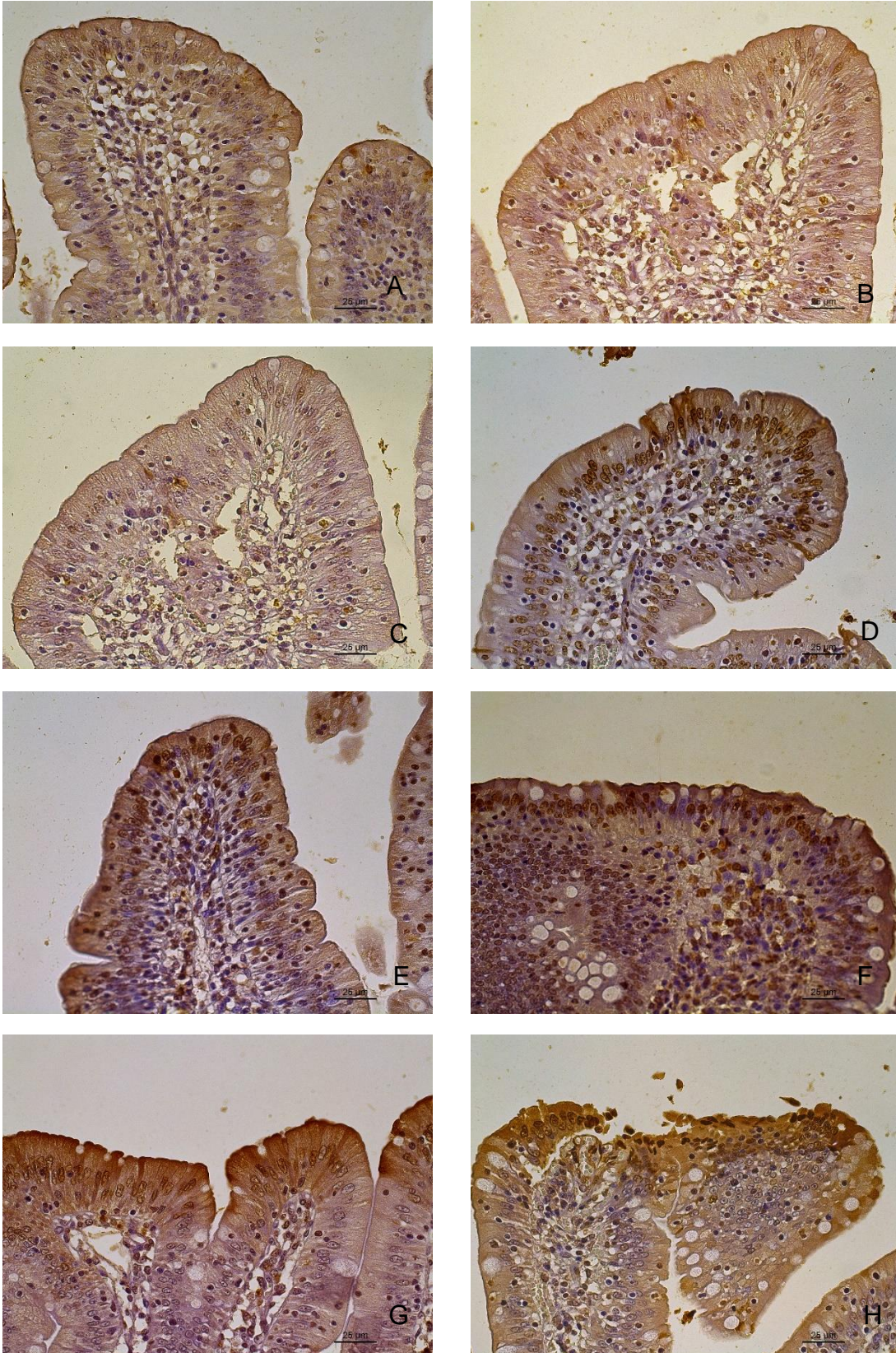


Figura 50, TUNEL região duodeno. Reação débil (Grau 1) num animal do grupo 2 (A); reação moderada (grau 2) num animal do grupo controle (B e C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo controle (D) e num animal do grupo 2 (E); reação muito intensa (grau 4) animal do grupo 1 (F), num animal do grupo 2 (G) e num animal do grupo controle (H).

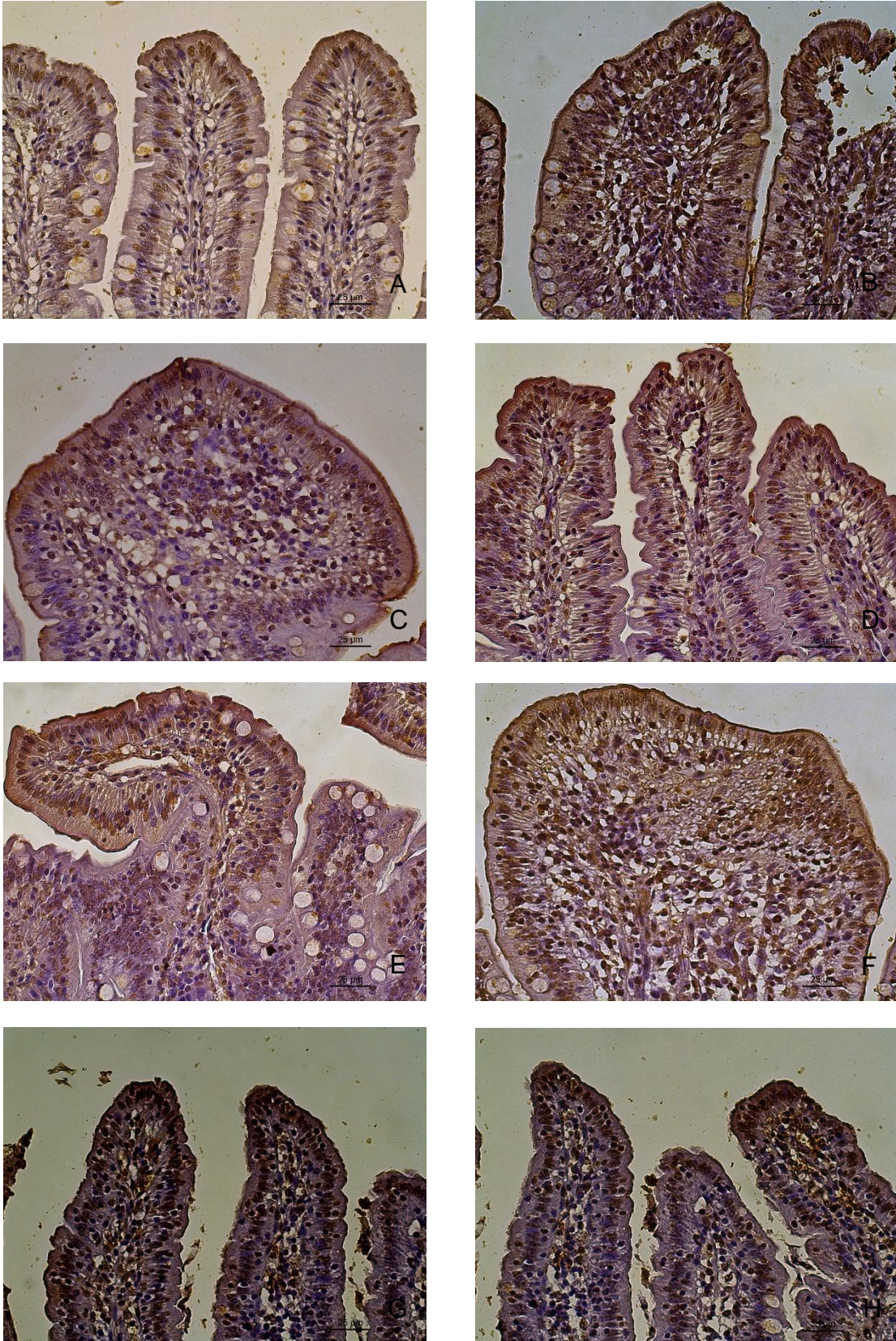


Figura 51. TUNEL região jejuno. Reação moderada (grau 2) num animal do grupo controle (A e B) e num animal do grupo 1 (C); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (D e E) e num animal do grupo (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2 (G e H).

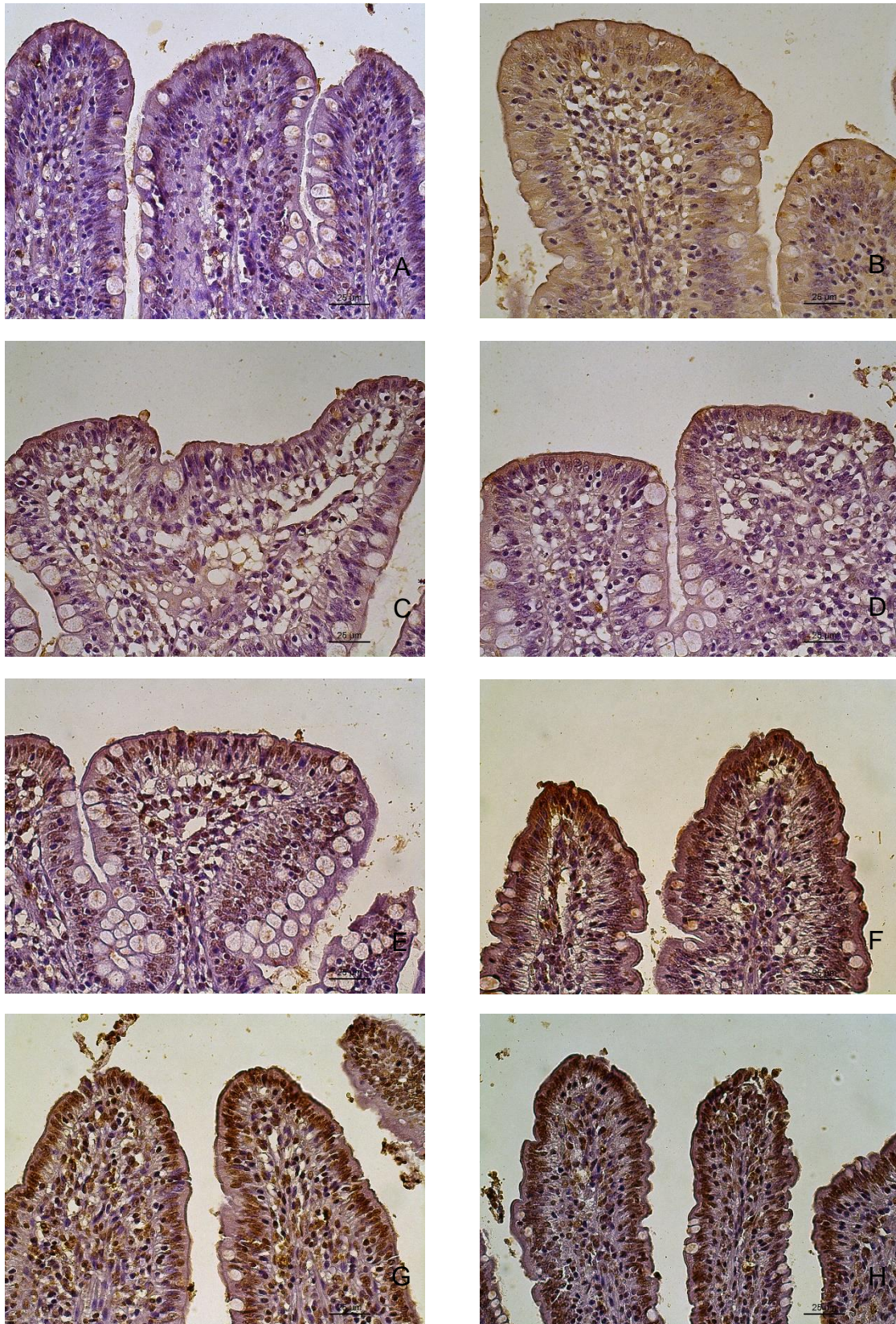


Figura 52. TUNEL região íleo. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 1 (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 1 (C e D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 2 (E) e num animal do grupo controle (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 2 (G e H).

Os valores de H-Score obtidos com o método TUNEL, revelam que no duodeno, o grupo 1 e o grupo 2 apresentaram valores médios semelhantes, 72,81 e 84,28, respetivamente, já o grupo controlo obteve um valor médio superior, de 100,105.

No jejuno, foram o grupo controlo e o grupo 1 que representaram valores médios muito semelhantes, de 49,55 e 44,34, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio muito superior, de 90,42.

Em relação ao íleo, o grupo controlo e o grupo 1 representaram valores médios semelhantes, 46,73 e 38,58, respetivamente, já o grupo 2 representou um valor médio muito superior, de 92,35.

Para todo o intestino delgado, a média de H-Score no grupo controlo e no grupo 1 foi semelhante, de 65,46 e 51,91, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 89,01.

Em relação ao total de células apoptóticas positivas, no duodeno, o grupo 1 e o grupo 2 apresentaram valores médios semelhantes, 181,5 e 206,67, respetivamente, já o grupo controlo obteve um valor médio superior, de 324,67.

No jejuno o grupo controlo e o grupo 2 apresentaram valores médios semelhantes, de 244,67 e 293,67, respetivamente, já o grupo 1 obteve um valor médio inferior de 199,17.

Em relação ao íleo, o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram valores médios semelhantes, de 193,17 e 194,17, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 271,16.

Em relação ao intestino delgado inteiro, o grupo controlo e o grupo 2 apresentaram um número médio de células apoptóticas semelhante, de 762,5 e 771,5, respetivamente, enquanto o grupo 1 obteve um valor médio inferior, de 574,83.

No que respeita ao índice apoptótico no duodeno, o grupo 1 e o grupo 2 apresentaram valores médios semelhantes, 32,76 e 42,54%, respetivamente, enquanto o grupo controlo obteve um valor médio superior, de 59,74%.

No jejuno o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram valores médios semelhantes, de 38,82 e 28,97%, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 48,65%.

No íleo, o grupo controlo e o grupo 1, apresentaram valores médios semelhantes, de 22,25 e 26,59%, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 47,37%.

Para todo o intestino delgado, o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram valores médios semelhantes, de 83,27 e 70,27%, respetivamente, já o grupo 2 apresentou um índice apoptótico bastante superior, de 100%.

A média do número de células apoptóticas por mm² no duodeno foi de 386,15 no grupo 1 e 439,69 no grupo 2, o grupo controlo registou uma média de 690,74 células.

No jejuno, o grupo controlo apresentou uma média de 520,54 células, o grupo 1 apresentou uma média de 423,73 células, sendo que o grupo 2 apresentou uma média superior de células, 624,65.

No íleo o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram uma média de células semelhante, de 410,96 e 413,09 células, respetivamente, já o grupo 2 obteve um número médio de células superior, de 576,91.

Para todo o intestino delgado, o número médio de células apoptóticas por mm² no grupo controlo e no grupo 2 foi superior, 1622,23 e 1641,25, respetivamente, já o grupo 1 obteve um número médio de células inferior, de 1222,97 células.

Nos quadros 27 e 28, estão registados os resultados obtidos após a avaliação da técnica TUNEL.

Quadro 26. Resultados obtidos com recurso a marcação por método TUNEL.

	H-score			Total células apoptóticas			
	Porco	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
Grupo 3 (Controlo)	1	148,15	61,42	0,67	429	276	12
	2	78,65	73,33	96,70	314	195	396
	3	4,53	16,13	67,50	61	262	304
	4	112,20	6,27	4,13	528	130	35
	5	194,94	65,79	62,67	303	275	208
	6	62,16	74,36	48,72	313	330	204
Grupo 1 (LR)	7	167,45	100,64	83,67	358	372	429
	8	1,25	62,70	56,98	15	225	179
	9	127,16	19,29	26,37	307	179	298
	10	62,65	3,83	39,86	128	43	124
	11	10,60	42,20	19,95	127	222	83
	12	67,76	37,37	4,66	154	154	52
Grupo 2 (HES)	13	19,21	17,95	7,21	139	111	155
	14	154,02	106,40	281,44	235	367	562
	15	2,21	7,49	10,97	11	104	152
	16	155,58	55,85	91,85	297	127	219
	17	147,64	181,94	82,04	340	460	254
	18	27,02	172,88	80,61	218	593	285

Quadro 27. Resultados obtidos com recurso a marcação por método TUNEL.

	Índice apoptótico				Células apoptóticas/mm ²		
	Porco	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
Grupo 3 (Controlo)	1	42,35	25,34	0,63	912,71	587,20	25,52
	2	26,95	31,10	27,35	668,04	414,87	842,50
	3	3,09	12,41	28,82	129,78	557,41	646,77
	4	42,86	5,66	2,14	1123,33	276,58	74,46
	5	41,11	28,56	20,27	644,64	585,07	442,52
	6	22,07	32,71	15,14	665,91	702,08	434,01
Grupo 1 (RL)	7	40,68	35,03	32,5	761,65	791,44	912,71
	8	0,86	23,46	19,80	31,91	478,69	380,83
	9	37,35	12,02	24,01	653,15	380,83	634
	10	16,86	2,30	17,22	272,32	91,48	263,81
	11	8,47	21,98	9,78	270,20	472,31	176,58
	12	20,05	17,52	2,48	327,64	327,64	110,63
Grupo 2 (HES)	13	9,29	7,88	6,64	295,73	236,16	329,77
	14	36,72	32,65	64,89	499,97	780	1195,67
	15	0,53	5,44	9,74	23,40	221,26	323,38
	16	40,91	16,86	26,13	631,87	270,20	465,93
	17	36,48	46,05	25,71	723,36	978,66	540,39
	18	22,99	52,20	25,58	463,80	1261,62	606,34

Na figura 54, pode observar-se a distribuição de animais de cada grupo pelos vários intervalos de H-Score definidos.

Em relação à região do duodeno pode constatar-se que, tanto no grupo controlo como no grupo 2, metade dos animais encontram-se no primeiro intervalo, ou seja, apresentam um grau de lesão menor, assim como quatro animais do grupo 1. A outra metade dos animais do grupo controlo e do grupo 2 e dois animais do grupo 1, encontram-se no segundo intervalo, indicando um nível de lesão intermédio.

Em relação à região do jejuno todos os animais do grupo controlo encontram-se no primeiro intervalo, bem como cinco animais do grupo 1 e metade dos animais do grupo 2, apresentando assim um grau de lesão menor.

Um animal do grupo 2 e metade dos animais do grupo dois encontram-se no segundo intervalo, indicando um nível de lesão intermédio.

Em relação à região do Íleo todos os animais do grupo controlo e grupo 1, encontram-se no primeiro intervalo, bem como cinco animais do grupo 2. Apenas foi encontrado um animal do grupo 2 no segundo intervalo.

Em relação ao intestino delgado inteiro, cinco animais do grupo controlo e do grupo 1, bem como metade dos animais do grupo 2, situaram-se no primeiro intervalo, ou seja, apresentaram um grau de lesão apoptótica menor. No segundo intervalo, ou seja, com um nível de lesão intermédio foram encontrados apenas um animal do grupo controlo e do grupo 1 e metade dos animais do grupo 2.

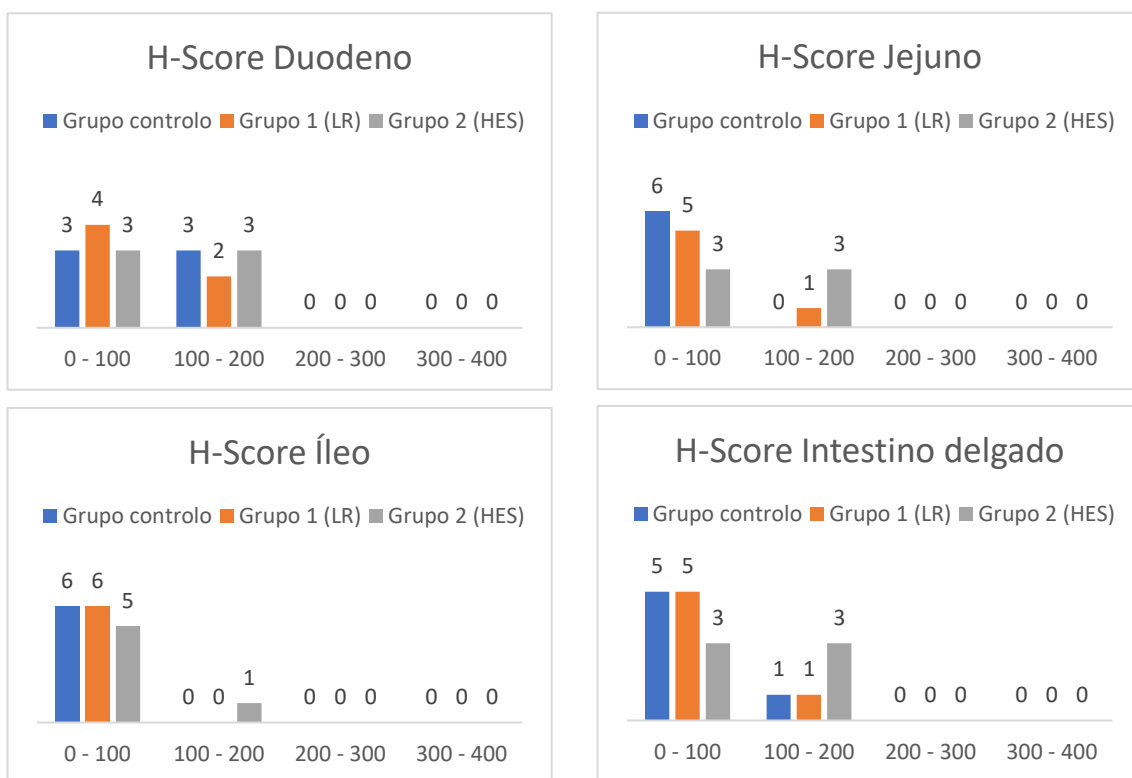


Figura 53. Número de animais dos grupos em estudo por intervalo de H-score nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.

Na figura 55, pode observar-se a distribuição de animais de cada grupo pelos vários intervalos de total de células apoptóticas definidos

No duodeno ambos os grupos apresentaram poucas células apoptóticas, isto é, menos de 550 células.

No caso da região do jejuno e íleo ambos os grupos controlo e grupo 1 apresentaram em todos os animais poucas células apoptóticas, isto é, menos de 550 células, já no grupo 2, cinco animais apresentaram menos de 550 células, sendo que num animal se registaram 593 células no jejuno e 562 células no íleo.

Em relação ao intestino delgado inteiro, o grupo controlo apresentou em todos os animais poucas células apoptóticas, menos de 550 células. Já em relação ao grupo 1, pode observar-se quatro animais com células apoptóticas inferiores a 550 células, um animal com 784 células apoptóticas e outro animal com 1159 células apoptóticas. No grupo 2 metade dos animais apresentaram poucas células apoptóticas, menos de 550 células, dois animais com valores entre os 550 e 1100 células apoptóticas e um animal com 1164 células apoptóticas.

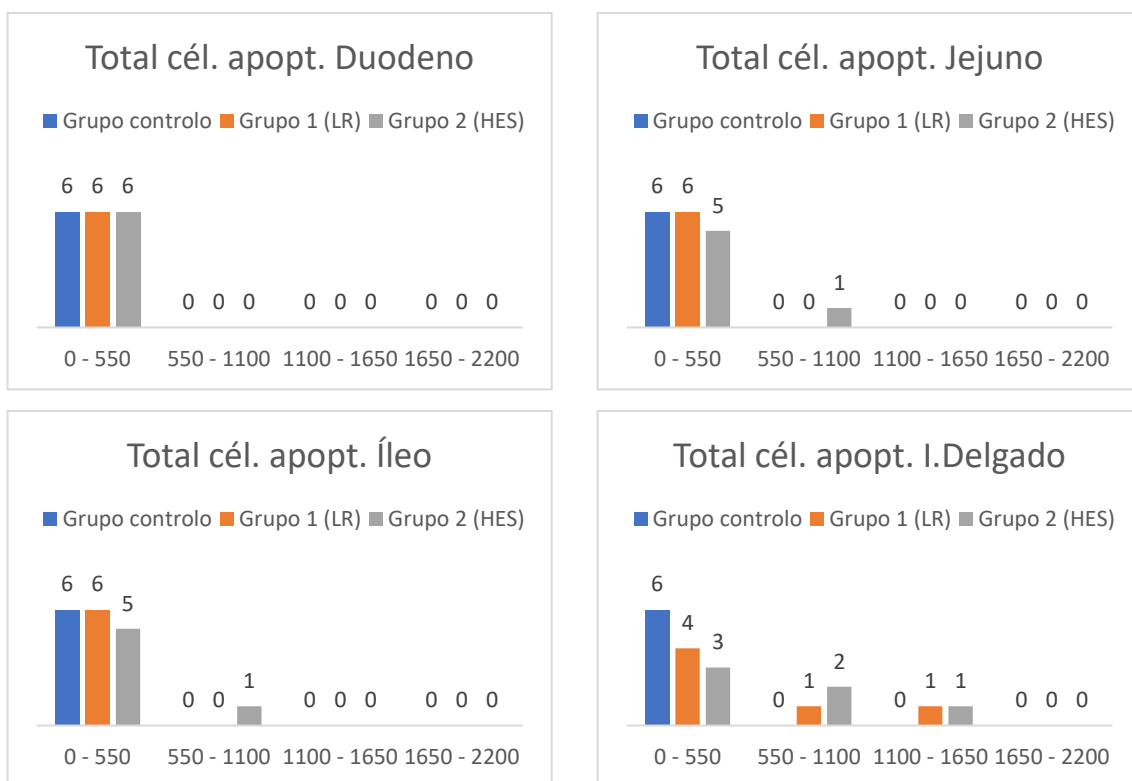


Figura 54. Número de animais dos grupos em estudo em cada intervalo de número total de células apoptóticas nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.

Na figura 56 pode observar-se a distribuição dos animais dos diferentes grupos pelos vários índices apoptóticos.

No duodeno dois animais do grupo controlo, quatro animais do grupo 1, bem como metade dos animais do grupo 2, apresentaram menos de 25% de células apoptóticas, ou seja, um índice apoptótico baixo. Quatro animais do grupo controlo, dois animais do grupo 1 e metade dos animais do grupo 2, apresentaram um índice apoptótico médio, isto é, entre 25 a 50% das células.

Em relação ao Jejuno, dois animais do grupo controlo, cinco do grupo 1 e metade dos animais do grupo 2, apresentaram menos de 25% de células apoptóticas, um índice apoptótico baixo. Quatro animais do grupo controlo, um animal do grupo 1 e dois animais do grupo 2, apresentaram um índice apoptótico médio, isto é, ente 25 a 50% das células. Apenas um animal do grupo 1 apresentou um índice apoptótico elevado, isto é, entre 50 a 75% das células.

No íleo, quatro animais do grupo controlo, cinco animais do grupo 1 e dois animais do grupo 2 apresentaram um índice apoptótico baixo, menos de 25% das células. Dois animais do grupo controlo, um animal do grupo 1 e três animais do grupo 2, apresentaram um índice apoptótico médio, de 25 a 50% das células. Apenas se verificou um animal do grupo 2 com índice apoptótico elevado, de 50 a 75% das células.

Em relação ao intestino delgado inteiro apenas um animal do grupo 2 apresentou um índice apoptótico baixo, inferior a 25% das células. Quatro animais do grupo 1, bem como um animal do grupo controlo e do grupo 2 apresentaram um índice apoptótico médio, entre 25 a 50% das células. Apenas um animal do grupo controlo apresentou um índice apoptótico elevado, entre 50 a 75% das células. Quatro animais do grupo controlo e do grupo 2, bem como dois animais do grupo 1 apresentaram um índice apoptótico muito elevado, com mais de 75% das células.

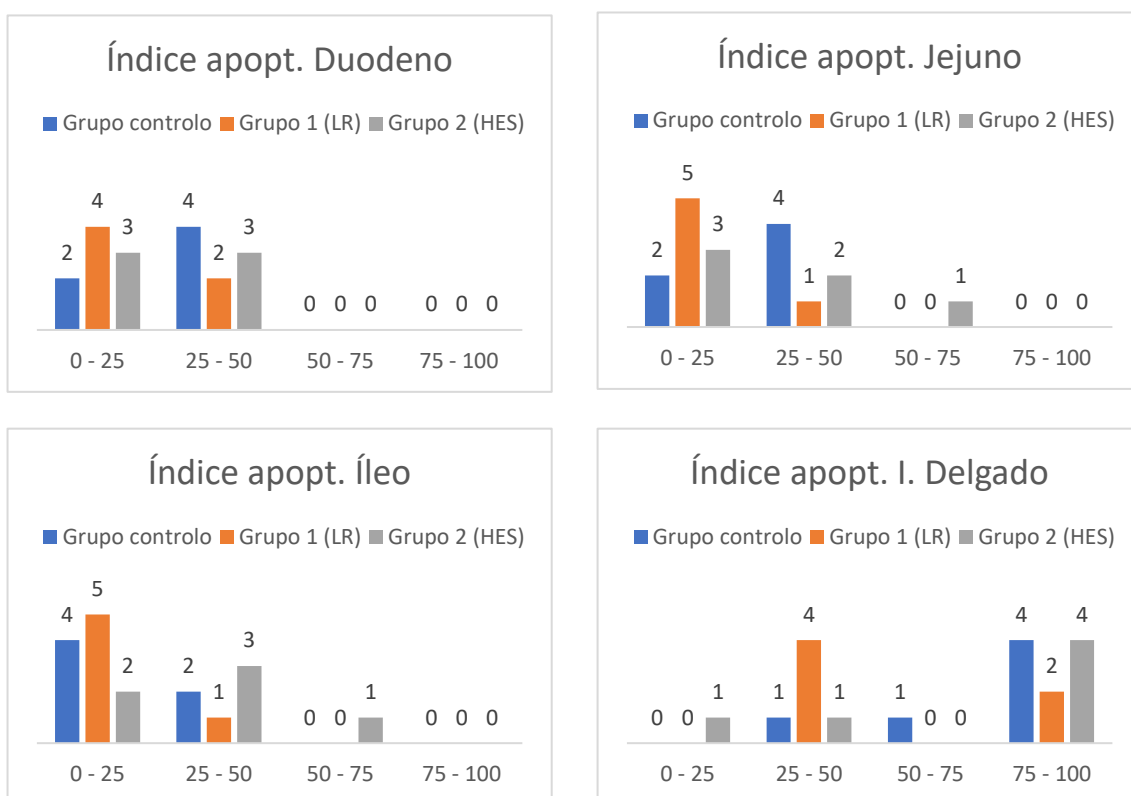


Figura 55. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de índice apoptótico nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.

A distribuição dos animais pelos diferentes intervalos de número de células apoptóticas/mm² pode ser observada na figura 57.

Em relação ao duodeno, um animal do grupo controle, bem como quatro animais do grupo 1 e do grupo 2 apresentaram menos de 600 células apoptóticas/mm². Cinco animais do grupo controle e os restantes animais do grupo 1 e 2 apresentaram entre 600 a 1200 células apoptóticas/mm².

Em relação ao jejunum a maior parte dos animais do grupo controle e grupo 1, e metade dos animais do grupo 2, apresentaram menos de 600 células apoptóticas/mm². Um animal do grupo controle e do grupo 1 e dois animais do grupo 2, apresentaram entre 600 a 1200 células apoptóticas/mm². Apenas foi registado um animal do grupo 2 com 1200 a 1800 células apoptóticas/mm².

No íleo quatro animais de cada grupo apresentaram menos de 600 células apoptóticas/mm². Três animais de cada grupo apresentaram entre 600 a 1200 células apoptóticas/mm².

Em relação ao intestino delgado inteiro apenas se verificou um animal do grupo controle com menos de 600 células apoptóticas/mm². Entre 600 a 1200 células apoptóticas/mm² observaram-se quatro animais do grupo 1 e um animal

do grupo 2. Entre 1200 a 1800 células apoptóticas/mm² foi observado cinco animais do grupo controle e um animal do grupo 1 e 2. Entre 1800 a 2400 células apoptóticas/mm² foi observado um animal do grupo controle e grupo 1 e três animais do grupo 2.

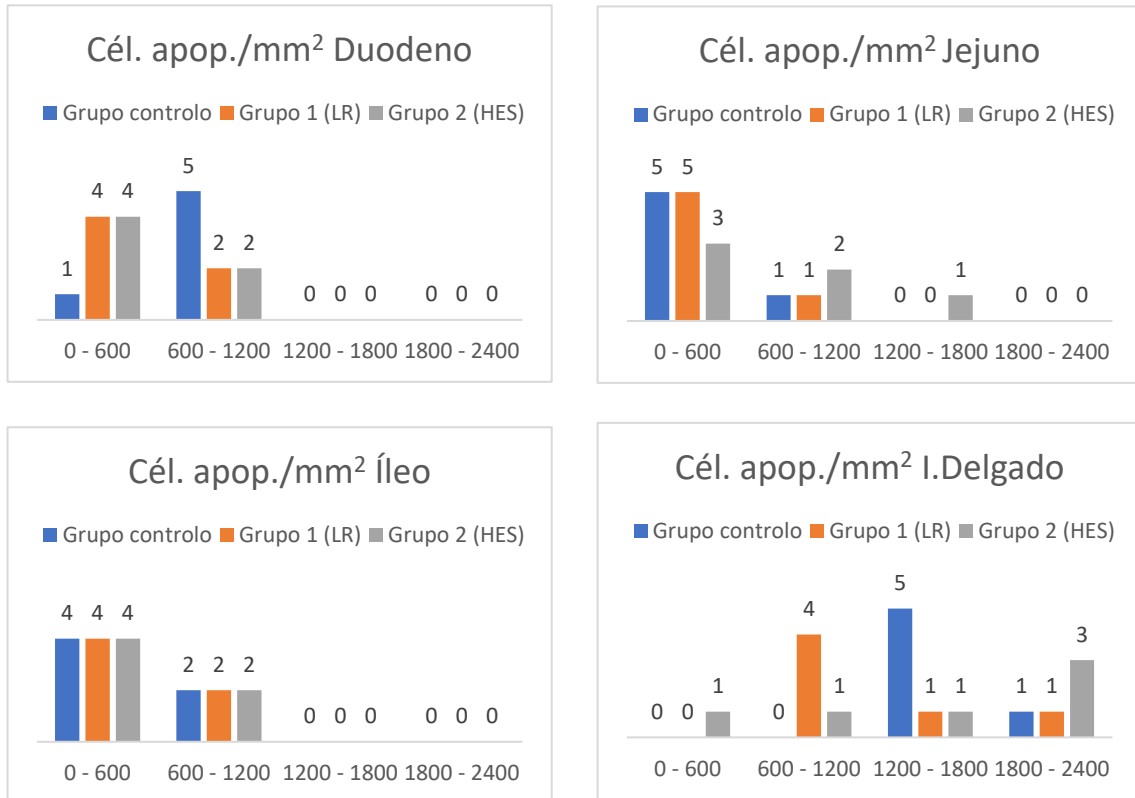


Figura 56. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de total de células apoptóticas/mm² nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.

A deteção de apoptose pelo método TUNEL foi realizado em seis animais de cada grupo, duodeno, jejuno e íleo.

A intensidade de reação variou de ausente a muito intensa (Figuras 58, 59 e 60).

No grupo 1 a intensidade média de marcação foi de moderada a intensa (grau 2 e 3) para o duodeno e íleo e moderada (grau 2) para o jejuno.

No grupo 2, a intensidade média de coloração foi intensa (grau 3) para o duodeno, jejuno e íleo.

No grupo 3, a intensidade média de marcação foi moderada (2) para o duodeno, foi variável de débil a moderada (grau 1 e 2) para o jejuno e moderada (grau 2) para o íleo (Figuras 11, 12 e 13).

Em relação ao intestino delgado inteiro, a intensidade de marcação foi intensa (grau 3) no grupo 1 e no grupo 2 e moderada (grau 2) no grupo controlo (grupo 3).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupos.

Nos quadros 29, 30, 31 e 32 estão representadas as médias do Q-score das regiões do intestino delgado, bem como o intestino delgado inteiro nos diferentes grupos, para a técnica de M30.

Quadro 28. Média Q-Score região Duodeno.

Duodeno	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	2	2	4	3	0	3	4	3	1	2	3	4	2	4	1	4	4	3
Média	2,33						2,83						3					

Quadro 29. Média Q-Score região Jejuno.

Jejuno	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	3	2	1	0	2	1	0	4	3	2	2	3	4	3	4	3	3	1
Média	1,5						2,33						3					

Quadro 30. Média Q-Score região Íleo.

Íleo	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	3	1	3	0	2	3	4	1	3	3	3	2	4	3	3	3	4	3
Média	2						2,66						3,33					

Quadro 31. Média Q-Score Intestino Delgado.

ID	Grupo Controlo						Grupo 1 (RL)						Grupo 2 (HES)					
Porco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Q-Score	3	2	3	0	2	3	4	3	3	2	3	3	4	3	3	3	4	3
Média	2,16						3						3,33					

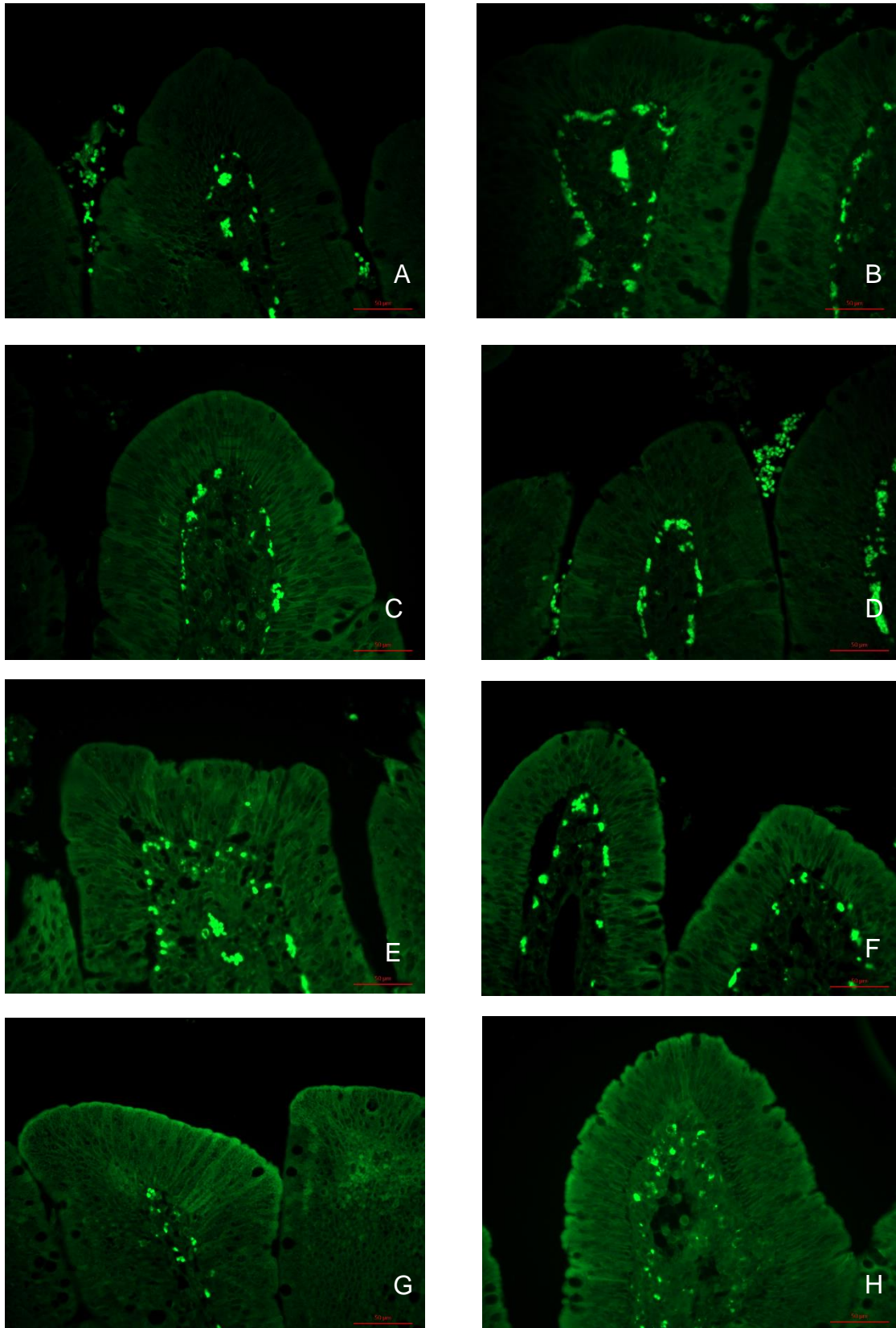


Figura 57. M30 região duodeno. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 2 (C) e num animal do grupo controlo (D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo controlo (G) e num animal do grupo 1 (H).

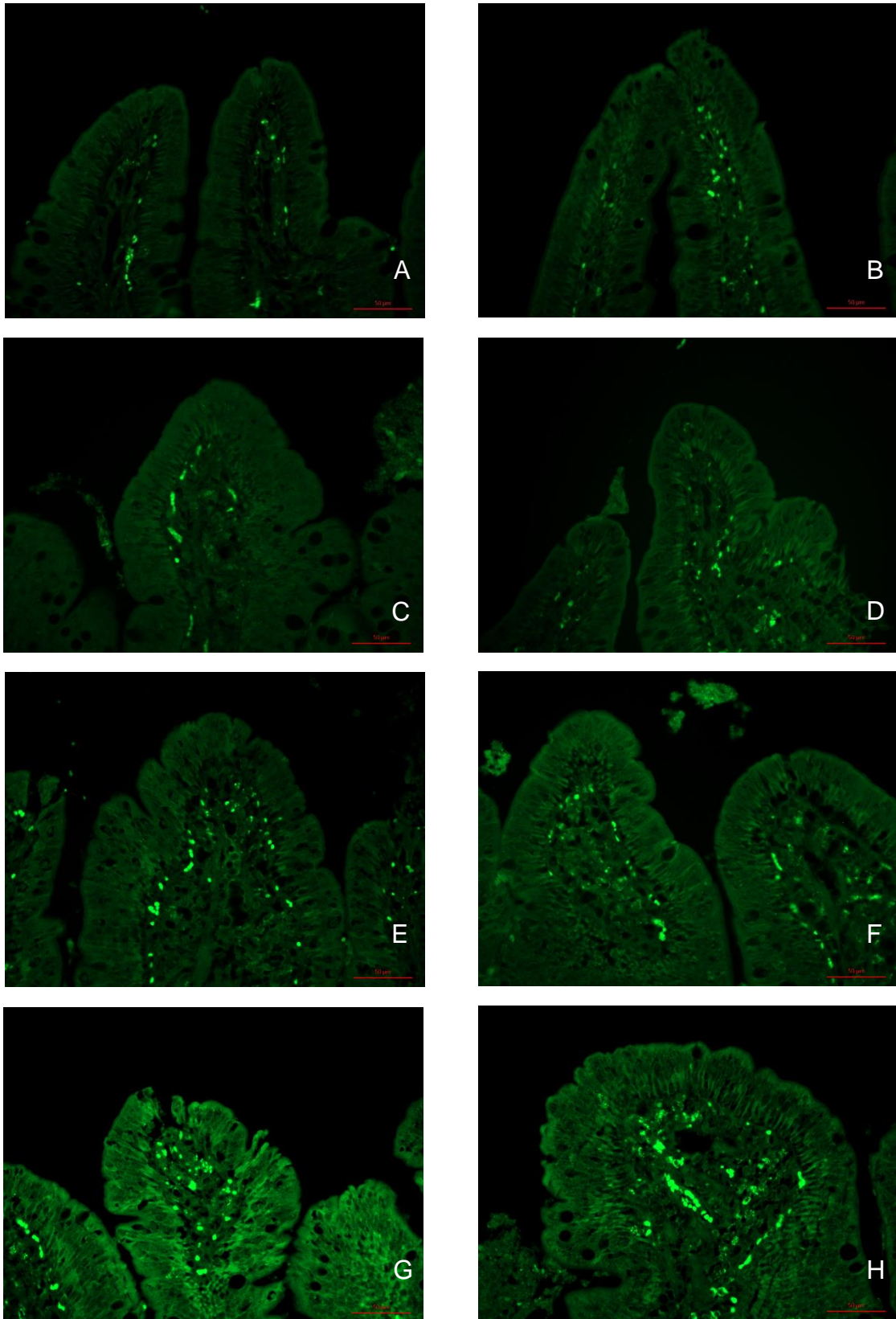


Figura 58. M30 região jejuno. Reação débil (grau 1) num animal do grupo controlo (A) e num animal do grupo 1 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo 2 (C e D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo 1 (G e H).

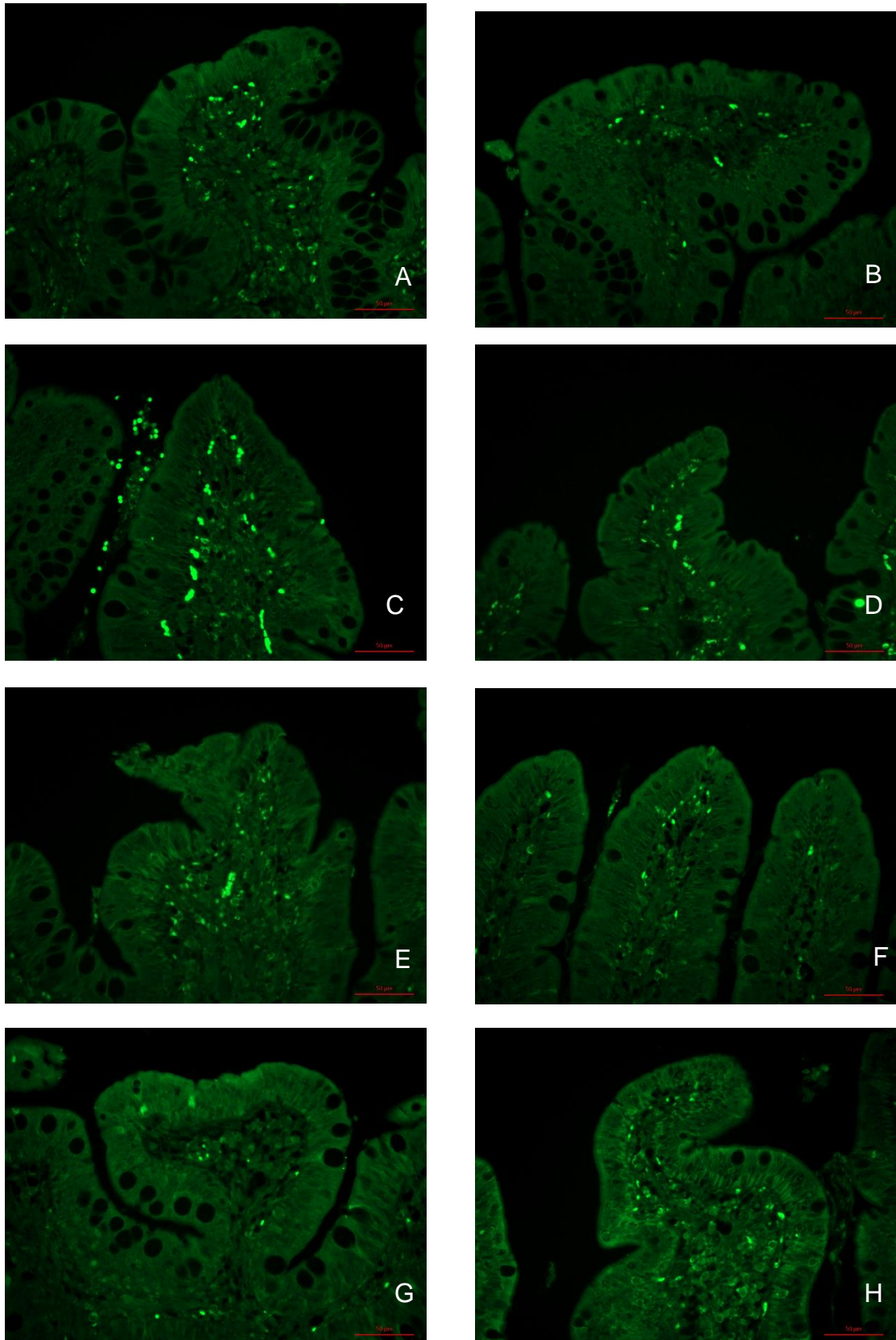


Figura 59. M30 região íleo. Reação débil (grau 1) num animal do grupo 1 (A) e num animal do grupo 2 (B); reação moderada (grau 2) num animal do grupo controle (C) e num animal do grupo 1 (D); reação intensa (grau 3) num animal do grupo 1 (E) e num animal do grupo 2 (F); reação muito intensa (grau 4) num animal do grupo controle (G) e num animal do grupo 2 (H).

Os valores de H-Score obtidos com o método M30, revelam que no duodeno, o grupo controlo e o grupo 1 apresentaram valores médios semelhantes, 33,05 e 28,36, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 40,25.

No jejuno, foram o grupo 1 e o grupo 2 que representaram valores médios muito semelhantes, de 26,23 e 28,48, respetivamente, já o grupo controlo obteve um valor médio muito inferior, de 7,09.

Em relação ao íleo, o grupo controlo e o grupo 1 representaram valores médios semelhantes, 4,97 e 11,37, respetivamente, já o grupo 2 representou um valor médio superior, de 28,37.

Para todo o intestino delgado, a média de H-Score no grupo controlo e no grupo 1 foi semelhante, de 15,04 e 21,99, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 32,37.

Em relação ao total de células apoptóticas positivas, no duodeno, o grupo controlo e o grupo 1 apresentaram valores médios semelhantes, 190,33 e 195,66, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 210,33.

No jejuno, o grupo controlo apresentou um valor médio de 48,83, o grupo 2 obteve um valor médio de 145,66, já o grupo 1 apresentou um valor médio superior de 145,66.

Em relação ao íleo, o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram valores médios semelhantes, de 35,66 e 79,66, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio muito superior, de 208,83.

Em relação ao intestino delgado inteiro, o grupo controlo apresentou um número médio de células apoptóticas de 274,83, o grupo 1 apresentou um valor médio de 446,5, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 564,83.

No que respeita ao índice apoptótico no duodeno, o grupo controlo e o grupo 1 apresentaram valores médios semelhantes, 17,45 e 17,80%, respetivamente, enquanto o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 22,92%.

No jejuno o grupo 1 e o grupo 2 obtiveram valores médios semelhantes, de 15,55 e 14,92%, respetivamente, já o grupo controlo obteve um valor médio inferior, de 4,28%.

No íleo, o grupo controlo e o grupo 1, apresentaram valores médios semelhantes, de 2,20 e 5,34%, respetivamente, já o grupo 2 obteve um valor médio superior, de 13,79%.

Para todo o intestino delgado, o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram valores médios semelhantes, de 20,03 e 33,65%, respetivamente, já o grupo 2 apresentou um índice apoptótico superior, de 50,05%.

A média do número de células apoptóticas por mm^2 no duodeno, o grupo controlo e o grupo 1 apresentaram valores médios semelhantes, de 200,14 e 205,75, respetivamente, já o grupo 2 apresentou um valor médio superior, de 221,17 células.

No jejuno, o grupo controlo apresentou uma média de 51,35 células, o grupo 2 apresentou uma média de 152,82 células, sendo que o grupo 1 apresentou uma média superior, de 179,99 células.

No íleo o grupo controlo e o grupo 1 obtiveram uma média de células semelhante, de 37,51 e 83,77 células, respetivamente, já o grupo 2 obteve um número médio de células superior, de 219,60.

Para todo o intestino delgado, o número médio de células apoptóticas por mm^2 no grupo controlo foi de 288,99 células, no grupo 1 apresentou um médio de 469,51 células, já o grupo 2 apresentou um número médio de células superior, de 593,59.

Nos quadros 33 e 34, estão registados os resultados obtidos após a avaliação da técnica M30.

Quadro 32. Resultados obtidos com recurso a marcação por método M30.

	H-score				Total células apoptóticas		
	Porco	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
Grupo 3 (Controlo)	1	62,22	5,13	5,02	399	64	40
	2	9,81	4,65	0,91	93	40	13
	3	56,41	3,22	9,77	313	29	60
	4	0,46	8,39	2,16	7	49	27
	5	2,43	15,57	6,23	38	70	37
	6	66,96	5,56	5,73	292	41	37
Grupo 1 (RL)	7	47,33	3,73	23,12	333	26	120
	8	52,8	62,22	3,99	381	399	66
	9	10,95	14,88	12,05	92	103	88
	10	4,89	1,33	8,82	65	17	61
	11	21,56	5,5	12,66	139	31	87
	12	32,61	69,7	7,6	164	451	56
Grupo 2 (HES)	13	59,77	112,31	117,88	375	566	846
	14	74,97	6,23	5,84	414	61	33
	15	7,05	19,65	12,13	71	88	132
	16	24,56	14,97	10,61	96	63	82
	17	66,08	17,09	17,15	266	89	103
	18	9,09	0,63	6,61	40	7	57

Quadro 33. Resultados obtidos com recurso a marcação por M30.

	Índice apoptótico				Células apoptóticas/mm ²		
	Porco	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
Grupo 3 (Controlo)	1	31,47	4,63	2,05	419,56	67,3	42,06
	2	8,55	5,08	0,88	97,79	42,06	13,67
	3	18,9	1,65	3,4	329,13	30,49	63,09
	4	0,38	3,27	1,55	7,36	51,52	28,39
	5	2,24	5,84	2,45	39,96	73,61	38,91
	6	17,53	2,9	2,24	307,05	43,11	38,91
Grupo 1 (RL)	7	22,73	1,67	6,98	350,16	27,34	126,18
	8	27,973	31,47	4,03	400,63	419,56	69,4
	9	6,44	8,58	5,43	96,74	108,31	92,53
	10	4,21	1,46	3,73	68,35	17,88	64,14
	11	7,76	2,08	5,23	146,16	32,6	91,48
	12	10,16	28,61	3,14	172,45	474,24	58,89
Grupo 2 (HES)	13	28,28	47,48	45	394,32	595,16	889,59
	14	33,15	4,31	2,22	435,33	64,14	34,7
	15	4,99	8,67	8,13	74,66	90,43	138,8
	16	7,28	5,99	4,45	100,95	66,25	86,23
	17	19,66	6,58	6,18	279,71	93,59	108,31
	18	3,18	0,36	2,84	42,06	7,36	59,94

Na figura 61, pode observar-se a distribuição de animais de cada grupo pelos vários intervalos de H-Score definidos.

Em relação à região do duodeno pode constatar-se que, em ambos os três grupos, todos os animais encontram-se no primeiro intervalo, ou seja, apresentaram um grau de lesão menor.

Em relação à região do jejuno todos os animais do grupo controlo e do grupo 1, bem como cinco animais do grupo 2 encontram-se no primeiro intervalo, apresentando assim um grau de lesão menor. Foi observado um animal do grupo 2 no segundo intervalo, indicando um nível de lesão intermédio.

Em relação à região do Íleo, tal como na região do Duodeno todos os animais do grupo controlo e grupo 1, bem como cinco animais do grupo 2 encontram-se no primeiro intervalo, apenas sido observado um animal do grupo 2 no segundo intervalo.

Em relação ao intestino delgado inteiro, ambos os três grupos, todos os animais encontram-se no primeiro intervalo, ou seja, apresentaram um grau de lesão menor.

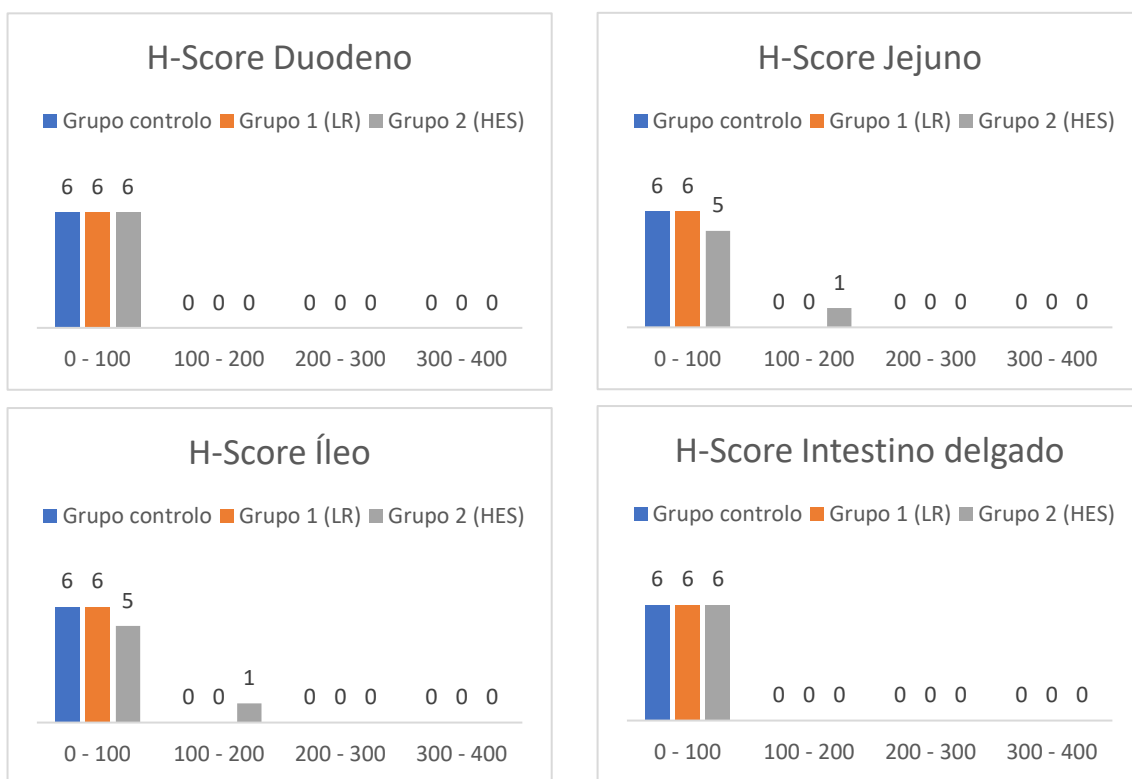


Figura 60. Número de animais dos grupos em estudo por intervalo de H-score nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.

Na figura 62, pode observar-se a distribuição de animais de cada grupo pelos vários intervalos de total de células apoptóticas definidos.

No duodeno ambos os grupos apresentaram poucas células apoptóticas, isto é, menos de 550 células.

No caso da região do jejuno e íleo ambos os grupos controlo e grupo 1 apresentaram em todos os animais poucas células apoptóticas, isto é, menos de 550 células, já no grupo 2, cinco animais apresentaram menos de 550 células, sendo que num animal se registaram 566 células no jejuno e 846 células no íleo.

Em relação ao intestino delgado inteiro, o grupo controlo apresentou em todos os animais poucas células apoptóticas, menos de 550 células. Já em relação ao grupo 1, pode observar-se quatro animais com células apoptóticas inferiores a 550 células, um animal com 671 células apoptóticas e outro animal com 846 células apoptóticas. No grupo 2 cinco animais apresentaram poucas células apoptóticas, menos de 550 células, e um animal com 1787 células apoptóticas.

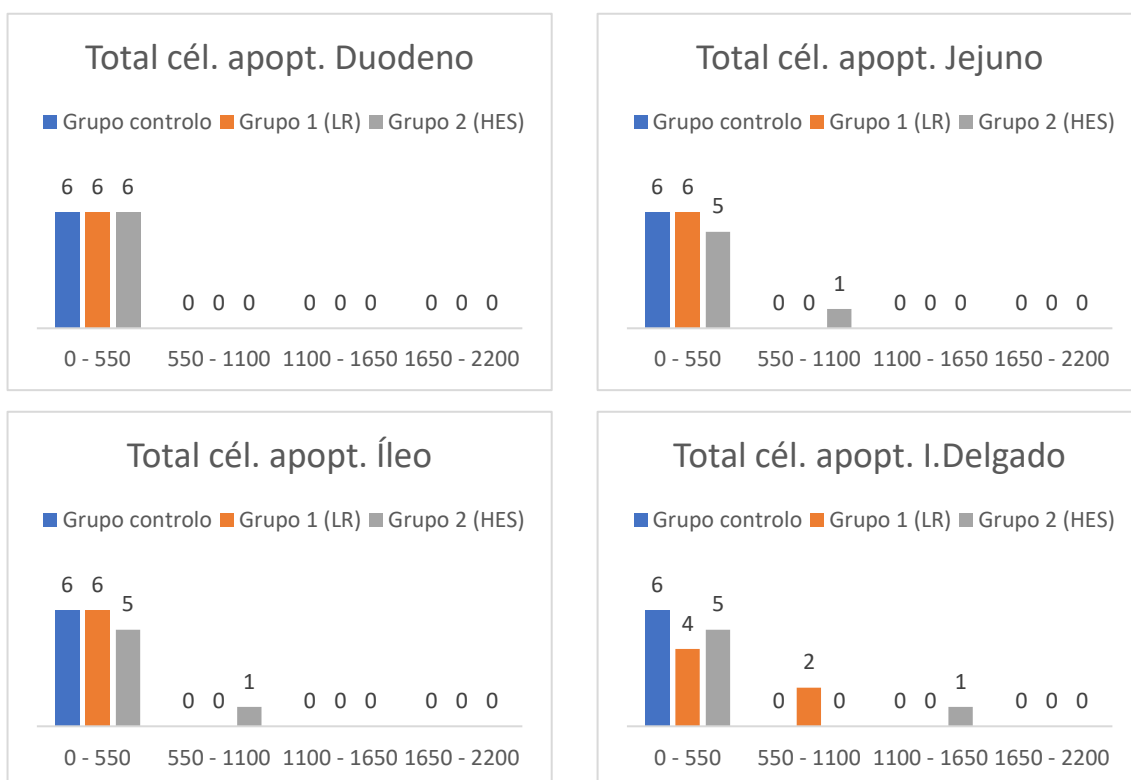


Figura 61. Número de animais dos grupos em estudo em cada intervalo de número total de células apoptóticas nas diferentes regiões intestinais e no intestino delgado inteiro.

Na figura 63, pode observar-se a distribuição dos animais dos diferentes grupos pelos vários índices apoptóticos.

No duodeno cinco animais do grupo controlo, cinco animais do grupo 1, bem como quatro animais do grupo 2, apresentaram menos de 25% de células apoptóticas, ou seja, um índice apoptótico baixo. Um animal do grupo controlo e do grupo 1, bem como dois animais do grupo 2, apresentaram um índice apoptótico médio, isto é, entre 25 a 50% das células.

Em relação ao Jejunio, todos os animais do grupo controlo, quatro do grupo 1 e cinco animais do grupo 2, apresentaram menos de 25% de células apoptóticas, um índice apoptótico baixo. Dois animais do grupo 1 e um animal do grupo 2, apresentaram um índice apoptótico médio, isto é, ente 25 a 50% das células.

No íleo, todos os animais do grupo controlo e do grupo 1, bem como cinco animais do grupo 2 apresentaram um índice apoptótico baixo, menos de 25% das células. Apenas um animal do grupo 2 apresentou um índice apoptótico médio, de 25 a 50% das células.

Em relação ao intestino delgado inteiro, quatro animais do grupo controlo, bem como metade dos animais do grupo 1 e do grupo 2 apresentaram um índice apoptótico baixo, inferior a 25% das células. Dois animais do grupo 1 e do grupo 2 apresentaram um índice apoptótico médio, entre 25 a 50% das células. Apenas um animal do grupo um apresentou um índice apoptótico elevado, entre 50 a 75% das células. Um animal do grupo 2 apresentou um índice apoptótico muito elevado, com mais de 75% das células.

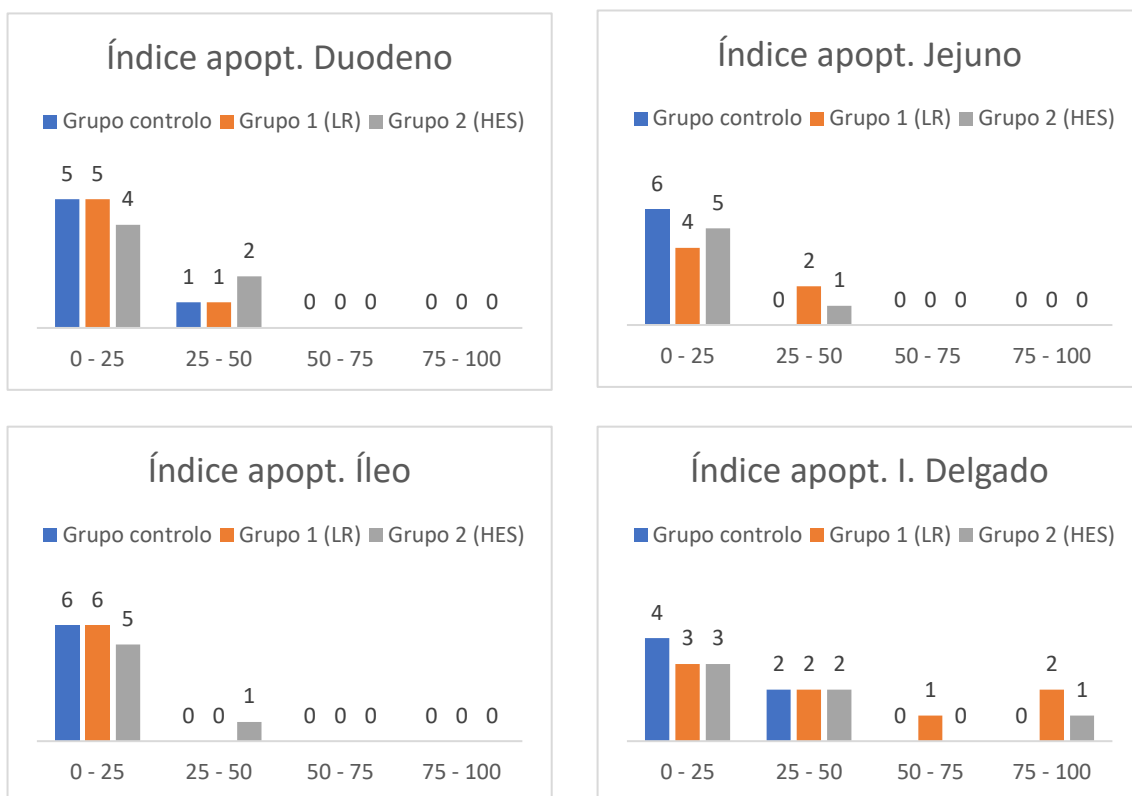


Figura 62. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de índice apoptótico nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.

A distribuição dos animais pelos diferentes intervalos de número de células apoptóticas/mm² pode ser observada na figura 64.

No duodeno e no jejuno, todos os animais de ambos os três grupos apresentaram menos de 600 células apoptóticas/mm².

Em relação ao íleo, todos os animais do grupo controle e do grupo 1, bem como cinco animais do grupo 2 apresentaram menos de 600 células apoptóticas/mm².

Em relação ao intestino delgado inteiro, todos os animais do grupo controle, bem como quatro animais do grupo 1 e cinco animais do grupo 2 apresentaram menos de 600 células apoptóticas/mm², dois animais do grupo 2 apresentaram entre 600 a 1200 células apoptóticas/mm². Apenas foi registrado um animal do grupo 2 com 1800 a 2400 células apoptóticas/mm².

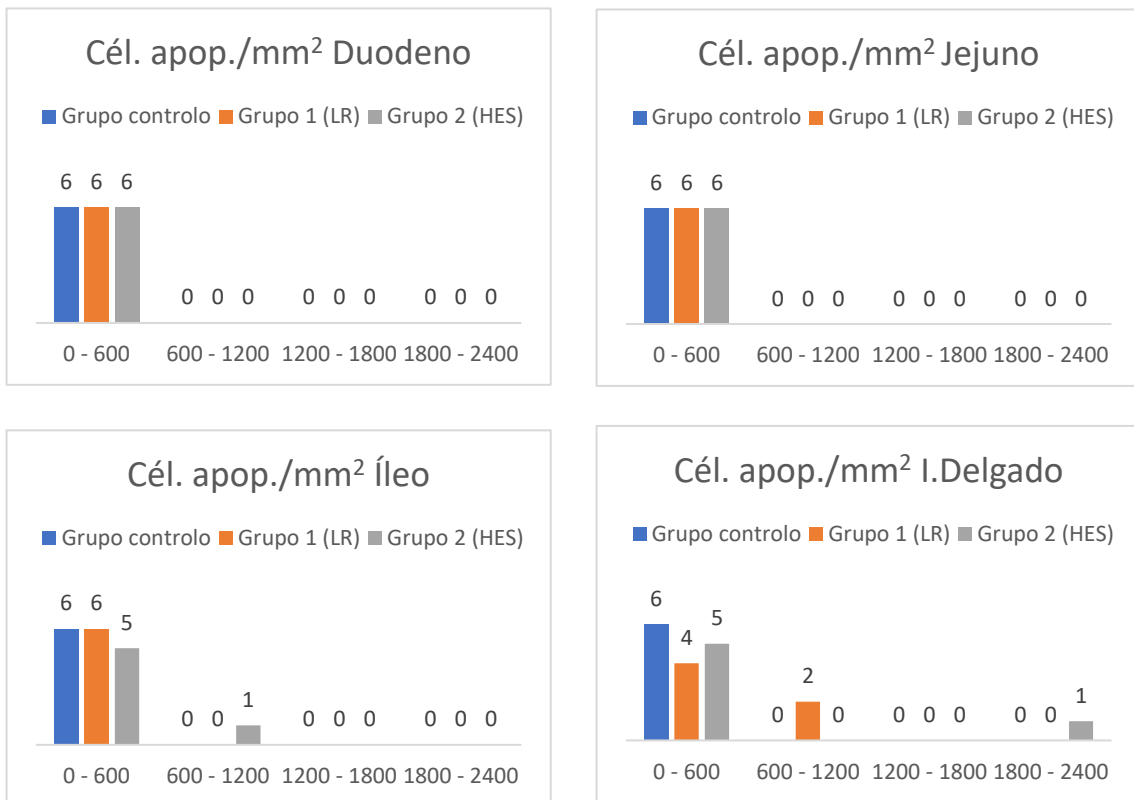


Figura 63. Número de animais de cada grupo em cada intervalo de total de células apoptóticas/mm² nas diferentes regiões intestinais, e no intestino delgado inteiro.

3.5. DISCUSSÃO

Analisando os resultados de histopatologia, obtidos com o método de coloração de rotina Hematoxilina & Eosina constatou-se que:

O edema, foi significativamente maior no grupo 2, quando comparado com o grupo controlo no jejuno. No entanto em relação ao intestino delgado inteiro, os níveis médios de edema foram significativamente mais elevados nos grupos 1 e 2 quando comparado com o grupo controlo, não apresentando diferenças significativas entre os grupos 1 e 2. Este resultado pode estar relacionado com a diminuição significativa do nível de proteínas totais nestes grupos, quando comparado ao grupo controlo que não sofreu sangramento. O desenvolvimento de edema após isquémia e reperfusão também pode resultar de um dano vascular, com extravasamento de líquido intravascular (Donna *et al.*, 2000; Eltzschig & Collard, 2004).

Os níveis de congestão em todo o ID foram significativamente menores nos grupos 1 e 2, quando comparados com o grupo controlo. O remifentanil é conhecido por ser um potente vasodilatador, afetando tanto vasos venosos como arteriais, com efeitos na circulação sistémica, provavelmente devido ao relaxamento da musculatura lisa (Bentley *et al.*, 1989; Samain *et al.*, 2000; Koch *et al.* 2008).

Na lesão por isquémia e reperfusão, pode ocorrer hemorragia após dano vascular considerável ou após o dano extensivo com desintegração da mucosa (Chiu *et al.*, 1970). A hemorragia foi apenas observada em dois animais, pertencente ao grupo 1, na região do íleo, com grau de lesão moderado e outro também na região do íleo, com grau de lesão débil. Considerou-me mais provável um achado accidental, por não estar associado à necrose, desintegração na lâmina própria, ulceração e/ou vasculite.

A inflamação foi significativamente maior nos grupos 1 e 2, quando comparado com o grupo controlo, na região do duodeno e significativamente maior no grupo 2 quando comparado com o grupo controlo na região do jejuno e no intestino delgado inteiro. Independentemente do grupo e do segmento do intestino delgado, os animais apresentaram infiltrado misto no interior da lâmina própria, com números variáveis de linfócitos, plasmócitos, macrófagos, eosinófilos e neutrófilos ocasionais. A hipovolémia grave e o choque

hemorrágico estão associados à diminuição do volume intravascular e, conseqüentemente, à diminuição da perfusão orgânica. Sabe-se que a isquemia intestinal seguida de reperfusão prejudica a função da barreira intestinal, permitindo a translocação bacteriana para a circulação, promovendo desta forma a inflamação sistêmica (Collard & Gelman 2001; Fink & Delude 2005).

Grootjans *et al.*, (2010) referiram que a isquemia intestinal prolongada, seguida de reperfusão, está associada a uma resposta inflamatória local e sistêmica, possivelmente devido à perda da barreira intestinal, com exposição a agentes patogênicos intraluminais, e também ao vazamento de componentes intracelulares de tecidos danificados, enterócitos. Embora não tenha sido atingido um estado de choque hipovolêmico ou de isquemia completa no presente estudo, o aumento da inflamação observado nos grupos 1 e 2, quando comparado ao grupo controle, pode estar relacionado com a resposta inflamatória aguda à hipoperfusão intestinal, como consequência do sangramento seguido de reposição volêmica.

A lesão da mucosa intestinal ocorre após isquemia, começando com descamação das células epiteliais nas pontas das vilosidades, devido à diminuição do nível de oxigênio disponível para essas células. Caso a isquemia se prolongue, as alterações na mucosa podem afetar todas as vilosidades, até à sua base (Chiu *et al.*, 1970; Robinson *et al.*, 1981; Juel *et al.*, 2004; Derikx *et al.*, 2008; Matthijsen *et al.*, 2009; Kviety, 2010).

Em relação à classificação da lesão da mucosa, não foram observadas diferenças significativas entre grupos. A classificação do dano da mucosa desenvolvido por Chiu *et al.*, (1970) inclui, para cada grau, alterações específicas da mucosa, desde o desenvolvimento do espaço subepitelial no ápice das vilosidades (grau 1) até a perda da superfície das vilosidades, com exposição de capilares dilatados e desintegração da lâmina própria com ulceração hemorrágica, incluindo mais características do que apenas a perda da mucosa. No presente estudo, não foram identificadas lesões incluídas no 5º grau, sendo provavelmente explicado pelo facto de não ter ocorrido a oclusão vascular completa e reposição volêmica, realizada logo após o sangramento – 30 min após.

Uma vez que a apoptose foi apenas avaliada numa fase de pós-reperfusão, este facto limitou as conclusões sobre quais alterações estarão relacionadas com a hipoperfusão e quais as alterações relacionadas à reposição volémica.

A infusão de propofol está relacionada com uma redução acentuada da perfusão esplâncnica e renal (Piriou *et al.*, 1999), sendo um facto relevante a ser considerado na avaliação dos efeitos histopatológicos da hipoperfusão intestinal, após mais de quatro horas de anestesia com propofol, como ocorreu com os animais do nosso estudo. Assim sendo o objetivo do grupo controlo usado no nosso estudo foi o de excluir as influências do tempo de anestesia com o propofol e as possíveis lesões intestinais associadas a uma possível hipoperfusão esplâncnica associada à administração de propofol.

A correlação entre as alterações histopatológicas intestinais observadas neste estudo e a função/disfunção intestinal não foi avaliada no presente estudo. Sabe-se, no entanto, que a lesão da mucosa intestinal após isquémia e reperfusão, está associada ao comprometimento da função da barreira intestinal, facilitando a translocação bacteriana para a circulação, o que pode levar à inflamação sistémica (Koziol *et al.*, 1988; Rush, 1992; Mythen & Webb, 1994; Biffi *et al.*, 1996). A lesão tecidual intestinal também é agravada pela reperfusão do tecido já lesado, o que também aumenta a inflamação local e sistémica, podendo levar à falência múltipla de órgãos (Grootjans *et al.*, 2010).

Em relação á técnica de citocromo C, os dados obtidos não permitiram obter diferenças estatisticamente significativas entre os diversos grupos, no entanto, foi possível constatar que a média de Q-Score de animais obtida foi superior no grupo 1 (reação intensa) em comparação com o grupo controlo (reação moderada) e com o grupo 2 (reação moderada a intensa).

Os resultados obtidos com recurso à marcação pelo método TUNEL na ponta das vilosidades, também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas, contudo os resultados do Q-Score no intestino delgado permitem constatar que a média de Q-Score de animais obtida foi superior no grupo 2 (reação intensa), quando comparado com o grupo controlo (reação débil a moderado) e com o grupo 1 (reação moderada).

Em relação aos resultados do H-Score no intestino delgado inteiro pelo método TUNEL, também não foram observadas diferenças estatisticamente

significativas entre os grupos, apresentando grau de lesão baixo e médio, sendo que, o grupo 2 (HES) apresentou três animais com grau lesional médio.

Com o método de M30 não se obtiveram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos referente ao Q-Score. Contudo constatou-se que a média de Q-Score no intestino delgado inteiro foi superior no grupo 2 (reação intensa), quando comparada com o grupo controle (reação moderada).

Também não foram encontradas diferenças estaticamente significativas em relação ao H-Score no intestino delgado inteiro pelo método M30, sendo que, todos os animais apresentaram grau lesional baixo

Os métodos utilizados na análise imunohistoquímica, nomeadamente a imunorreatividade ao anticorpo do citocromo C, a imunorreatividade ao anticorpo e o método TUNEL podem não permitir a avaliação precisa de estímulos pró-apoptóticos e apoptose numa fase tão precoce de lesão e reperfusão, na ausência de isquémia completa.

Na via intrínseca da apoptose, após a fase de sinalização, o citocromo C é libertado da mitocôndria para o citosol, desencadeando a ativação da caspase resultando na clivagem de alvos celulares – fase de execução. Portanto, a partir dos métodos utilizados, a avaliação do citocromo citosólico C é considerado o método mais eficaz na deteção de fases precoces do processo apoptótico, uma vez que a sua libertação para o citosol é um passo crítico nesse processo.

A técnica de Citocromo C recorre à atividade das proteínas avidina e biotina, trata-se de um método que deteta a apoptose na sua fase inicial e, mesmo sendo reconhecida por Garcia (2013) como passível de falsos positivos, pouco específica e causadora de muito fundo, acabou por apresentar resultados bastante semelhantes aos restantes métodos.

A técnica de TUNEL, a qual recorre à identificação de locais de fragmentação de DNA, sendo por isso uma técnica que só deteta a apoptose já numa fase mais tardia, acarreta um elevado custo e apresenta alguma tendência para alsos positivos, no entanto, neste trabalho revelou resultados muito semelhantes aos restantes ensaios (Stähelin *et al.*, 1998; Pulkkanen *et al.*, 2000).

O M30 é um anticorpo desenvolvido para interagir com a citoqueratina 18 e é considerado o mais específico na deteção de estados iniciais de apoptose, permitindo detetar a apoptose antes de qualquer um dos restantes métodos

utilizados, contudo possui a desvantagem dos seus custos elevados (Garcia, 2013).

No global, as técnicas de deteção de eventos apoptóticos, apesar das diferentes vias a que recorrem para a deteção dos mesmos, apontaram no sentido de que as amostras dos animais tratadas com lactato de Ringer obtiveram um grau de lesão muito semelhante ao observado no grupo controlo, enquanto que as amostras dos animais tratados com hidroxietilamido apresentam um maior grau de lesão intestinal.

3.6. CONCLUSÕES

A avaliação histopatológica do intestino delgado feita com recurso à coloração de rotina de H&E não revelou diferenças significativas entre os animais dos três grupos. Ao avaliar o grau de lesão observado no conjunto de animais de cada grupo foram encontradas algumas diferenças na expressão de algumas das lesões avaliadas, como o caso de edema e congestão, onde o edema foi significativamente superior nos grupos LR e HES, já a congestão foi significativamente inferior nos grupos LR e HES.

Os métodos de imunohistoquímica e imunofluorescência implementados no laboratório de anatomia patológica da ESAV, no decurso do projeto PTDC/CVT/ 101999/2008, foram bem sucedidos.

Os resultados obtidos com os métodos utilizados para a detetar a apoptose, ao contrário da tendência, verificada no estudo histopatológico, conduziram à conclusão de que os animais tratados com lactato de Ringer apresentam um menor grau de lesão, quando comparados com os animais tratados com hidroxietilamido 130/0,4. No entanto as diferenças não foram estatisticamente significativas.

Assim, podemos concluir que o lactato de Ringer possui uma maior capacidade de prevenção da lesão de hipoperfusão a nível intestinal, quando comparado com o hidroxietilamido 130/04 e de preservação da arquitetura celular, em situações de hipoperfusão, hemorragia e recuperação sob anestesia geral.

3.7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O intestino é provavelmente o órgão mais sensível à lesão de isquemia e reperfusão. Sendo esta lesão associada à perda da função da barreira intestinal, translocação bacteriana na circulação e consequente inflamação sistêmica. O controle da lesão de hipoperfusão/reperfusão intestinal deve ser feita com recurso à fluidoterapia.

Após a análise dos resultados obtidos nos diversos métodos histológicos e imunohistoquímicos, podemos aconselhar, segundo os mesmos, que o uso de um cristalóide, nomeadamente o Lactato de Ringer, apresenta um maior grau de proteção da mucosa intestinal do que um colóide, nomeadamente o Hidroxietilamido 130/0,4.

Assim sendo, através deste projeto, damos o nosso contributo para facilitar a escolha do fluido mais adequado para situações de volémia reduzida, assim como do protocolo mais apropriado para estes casos.

O Enfermeiro Veterinário tem um papel crucial durante a abordagem destas emergências veterinárias, tendo por competências a monitorização e adaptação do tratamento à evolução do paciente.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adamantos S (2008). Fluid therapy- patient assessment. *Abstracts European Veterinary Conference Voorjaarsdagen*. Amsterdam: 60-61.

Aehlert B (2011). *Paramedic Practice Today: above and beyond*. Massachusetts, Jones & Barlett Learning. Volume 1: 232-234.

Aldrich J (1999). Shock. *BSAVA - Manual of canine and feline emergency and critical care*. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association: 23-35.

Aldrich J (2009). Shock Fluids and Fluid Challenge. In Silverstein DC & Hopper K (Eds). *Small Animal Critical Care Medicine*. Missouri, Saunders Elsevier: 276-280

Aldrige P, O'Dwyer L (2013). *Practical Emergency and Critical Care Veterinary Nursing*. Chichester, Wiley-Blackwell: 30-40.

Al-Khafaji A, Webb AR (2004). Fluid resuscitation. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*. 4 (4): 127-131.

Barkla DH, Gibson PR (1999). The fate of epithelial cells in the human large intestine. *Pathology*, 31(3), pp.230–8.

Barton LJ (2009) Daily Assessment of the Critically Ill Patient. In: *Small Animal Critical Care* ed Silverstein, Deborah C.; Hopper K., 1st ed. ISBN 978143770746 :852.

Baue AE (2006). MOF, MODS, and SIRS: what is in a name or an acronym? *Shock (Augusta, Ga.)*, 26(5):38–49.

Beebe RWO, Funk DL (2001). Fundamentals of Emergency care, Available at:
<http://books.google.co.uk/booksid=0Auoxgl7kKUC&pg=PR19&lpg=PR19&dq=Fundamentals+of+Emergency+care&source=bl&ots=ajCZhHOXkR&sig=1qhsi3TYhI6ScUT4yEHDIwFLLi4&hl=ptPT&sa=X&ei=LAhYVMaiK4bN7Qbm1oCADQ&ved=0CFEQ6AEwBA#v=onepage&q=hypovolemia&f=false>.

Bentley GN, Gent JP, Goodchild CS (1989). Vascular effects of propofol: smooth muscle relaxation in isolated veins and arteries. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 41(11):797–8.

Biffi WL (1996). Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation? *Annals of surgery*, 224(5):647–64.

Blikslager AT (1997). Is reperfusion injury an important cause of mucosal damage after porcine intestinal ischemia? *Surgery*, 121(5):526–534.

Blikslager AT (2007). Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiological reviews*, 87(2):545–64.

Boag AK, Hughes D (2005). Assessment and treatment of perfusion abnormalities in the emergency patient. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 35(2): 319–42.

Boag AMA (2011). How to perfuse/transfuse my trauma patient. *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference – SEVC*. Barcelona.

Boller E M, Otto CM (2010). Shock. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of veterinary medicine*. St.Louis, Missouri: Elsevier

Brady C A, Otto CM (2001). SIRS, sepsis and multiple organ dysfunction. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 35(2):1147-1162.

Buchard KW, Brasel K, Capella J, Pritts TA (2013). Shock: Cell Metabolic Failure. In Lawrence PF (Ed). *Critical Illness in Essentials of General Surgery* (5ª Edição). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 93-94.

Bulkley GB (1985). Relationship of blood flow and oxygen consumption to ischemic injury in the canine small intestine. *Gastroenterology*, 89(4):852–7.

Burkitt HG, Young B, Heath JW (1993). *Wheater's Functional Histology A Text and Colour Atlas 3ª edição*, Gastrointestinal tract. Churchill Livingstone, ISBN: 0443056889, :259-268.

Carcillo JA, Wheeler DS, Kooy NW, Shanley, TP (2007). Shock: An overview. In D.S. Wheeler; H.R. Wong; T.P.

Chan DL (2008). What's New in Colloid Fluids?. *Abstracts European Veterinary Conference Voorjaarsdagen*. Amsterdam: 73-74.

Chen Y (2004). Depletion of intestinal resident macrophages prevents ischaemia reperfusion injury in gut. *53(12):1772–80*.

Cheng Q, Yang G, Ma J, Li J, Shan Q (2014). Effects of different types of fluid resuscitation on hepatic mitochondria and apoptosis. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 7 (2): 335-342.

Collard CD, Gelman S (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*, 94(6):1133–8.

Davis H, Jensen T, Johnson A, Knowles P, Meyer R, Rucinsky R, Shafford H (2013). Fluid Therapy Guidelines for Dogs and Cats. *2013 AAHA/AAFP Fluid Therapy Guidelines for Dogs and Cats*: 5-15

Day TK, Bateman S (2006). Shock Syndromes. In S. P. DiBartola, *Fluid Therapy In Small Animal Practice*. Philadelphia: Saunders: 540.

De Laforcade AM, Silverstein DC (2009). Shock. In: *Small Animal Critical Care* ed Silverstein, Deborah C.; Hopper K., 1st ed, ISBN 9781416025917: 41

Derikx JPM (2008). Rapid reversal of human intestinal ischemia-reperfusion induced damage by shedding of injured enterocytes and reepithelialisation. *PloS one*, 3(10): 3428.

Donohoe C (2012). *Fluid Therapy for Veterinary Technicians and Nurses*. Iowa, Wiley-Blackwell: 16-17, 149-152, 155.

Driessen B, Brainard B (2006). Fluid therapy for the traumatized patient. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 16(4): 276-299.

Elling B (2012). Pathophysiology. In Elling B & Smith M (Eds). Nancy Caroline's Emergency Care in the Streets (7ª Edição). Massachusetts, Jones & Barlett Learning: 366

Eltzschig HK, Collard CD (2004). Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*: 71–86.

Figueira ERR (2007). Efeito da solução salina hipertônica nas lesões resultantes da isquemia/reperfusão hepática: estudo experimental em ratos. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo: 20-21.

Fink MP, Delude RL (2005). Epithelial barrier dysfunction: a unifying theme to explain the pathogenesis of multiple organ dysfunction at the cellular level. *Critical care clinics*, 21(2):177–196.

Garcia C (2013). Avaliação da técnica imunohistoquímica como método de detecção da apoptose a nível celular. Escola Superior Agrária de Viseu, Viseu: 15-25, 41-54, 65-69, 77-82.

Groeneveld ABJ (2013). Hypovolemic Shock. In Parrillo JE & Dellinger RF (Eds). *Critical Care Medicine: Principles of Diagnosis and Management in the Adult* (4ª Edição). Philadelphia, Elsevier Saunders: 379-407

Grootjans J (2010). Human intestinal ischemia-reperfusion-induced inflammation characterized: experiences from a new translational model. *The American journal of pathology*, 176(5):2283–91.

Hackett ES (2011). Alterations of Drug Metabolism in Critically Ill Animals. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.*41(4):805-815.

Hamimy W, Khalil M, Ismail M, Salem WT, Fayed AM, Khalek MA, Mussad I, Djurberg H, Al-Khoja A, Al-Yafi W, Shabacy A, Soliman S, Naguib A, Al-Zamk H, Maan M, Khalaf M, Honjul N, Al-Zoghaiby N, El-Ela MA, Kafafi Y, Zeyada H, Maher K, Gad MS (2011). Waxy-Maize HES 130/0.4; evidence based clinical decisions. *Egyptian Journal of Anaesthesia*. 27: 197-202.

Hansen B (2012). Technical aspects of fluid therapy. In S. P. DiBartola, *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice* 4th edition, Missouri: Elsevier Saunders. 15:351-385.

Haskins SC, Macintire DK (2012). Fluid therapy. In D. K. Macintire, K. J. Drobatz, S. C. Haskins & W. D. Saxon, *Manual of Small Animal Emergency and Critical Care Medicine* 2nd edition. Oxford: Wiley-Blackwell. 6:63-84.

Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ (1997). Post-ischaemic organ dysfunction: A review. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 14(3):195–203.

Hughes D (2006). WHAT'S BEST FOR HYPOVOLEMIC SHOCK – CRYSTALLOIDS OR COLLOIDS?. *Proceedings Of The North American Veterinary Conference Volume 20*. Orlando, Florida: 243-245.

Ikeda H (1998). Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. *Gut*, 42(4):530–537.

Jasani S (2011). Saunders Solutions in Veterinary Practice: Small Animal Emergency Medicine. Missouri, Saunders Elsevier: 3-8, 19-27

Juel IS (2004). Intestinal injury after thoracic aortic cross-clamping in the pig. *The Journal of surgical research*, 117(2):283–95.

Junqueira L, Carneiro J (2004). Trato digestivo. Histologia básica 10ªed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro: 284-314. CEP:20040-040.

Kang HJ, Sol MY, Park DY, Lee SH, Shin DH, Kim JY, Choi KU, Kim HW, Lee CH, Huh GY (2006). Assessment of Apoptosis by M30 Immunoreactivity and the Relationship with the MSI status and the Clinicopathological Characteristics of Colorectal Carcinomas. *The Korean Journal of Pathology*. 40: 319-325.

King L, Boag A (2007). BSAVA Manual of Canine and Feline Emergency and Critical Care, ISBN 9780905214883.

Kirby R (2001) Cats in Shock Survival of the Fittest.

Koch M (2008). Effects of propofol on human microcirculation. *British journal of anaesthesia*, 101(4):473–478.

Koziol JM (1988). Occurrence of bacteremia during and after hemorrhagic shock. *The Journal of trauma*, 28(1):10–16.

Kumar A, Parrillo JE (2001). Shock: Classification, Pathophysiology and Approach to Management. In J. E. Parrillo, & R. P. Dellinger, *Critical Care Medicine, Principles of Diagnosis and Management*. Toronto: Mosby:371-420.

Kvietys PR (2010). Gastrointestinal Circulation and Mucosal Pathology I: Ischemia/Reperfusion. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53095/>

Mallick IH, Yang W, Winslet MC (2004). Ischemia – Reperfusion Injury of the Intestine and Protective Strategies Against Injury. *Digestive Diseases*, 49(9):1359–1377.

Manning AM (2002). Oxygen therapy and toxicity. In *Journal of Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 32(5):1005-1020.

Marshall JC (2002). Disfunção de múltiplos órgãos e sistemas. In F.S.Dias, *Choque*. Porto Alegre: EDIPUCRS:375-386.

Mathews KA (2006). *Veterinary emergency critical care manual: Shock*. Guelph, LifeLearn Inc.

Matthijsen RA (2009). Enterocyte shedding and epithelial lining repair following ischemia of the human small intestine attenuate inflammation. *PLoS one*, 4(9):7045.

Mayhew TM (1999). Epithelial integrity, cell death and cell loss in mammalian small intestine. *Histology and histopathology*, 14(1):257–67.

Mazzaferro E (2013). *Small Animal Fluid, Electrolyte and Acid-base Disorders*. London, Manson Publishing Ltd: 47-77, 131-137.

Mazzaferro E, Powell LL (2013). Fluid therapy for the emergent small animal patient: crystalloids, colloids, and albumin products. In *Journal of Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*, 43 (4):721-734.

Menger MD, Vollmar B (2000). Role of microcirculation in transplantation. *Microcirculation*. New York. 7(5):291–306.

Meregalli A, Oliveira RP, Friedman G (2004). Occult hypoperfusion is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients. *Critical care: London, England*. 8(2):60–5.

Mitchell RN (2014). Cell Responses to Stress and Toxic Insults: Adaptation, Injury and Death. In V. Kumar, A. K. Abbas, & J. C. Aster, eds. *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: Elsevier Saunders: 31–68.

Moore KE, Murtaugh RJ (2001). Pathophysiologic characteristics of hypovolemic shock. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*.31(6):1115-1128.

Myers RK, Zachary JF, McGavin MD (2012). Cellular Adaptations, Injury and Death: Morphological, Biochemical and Genetic Bases. In J. F. Zachary & M. D. McGavin, eds. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. St Louis, Missouri: Elsevier Science Health Science Division:10–26.

Mythen MG, Webb AR (1994). Intra-operative gut mucosal hypoperfusion is associated with increased post-operative complications and cost. *Intensive care medicine*.20(2):99–104.

Nolan J (2001). Fluid resuscitation for the trauma patient. *Resuscitation*. 48: 57-69.

Ortiz A (2015). The influence of administering Ringer’s Lactate solution or HES 130/0.4 on the integrity of the small intestinal mucosa in a pig model of controlled haemorrhage.

Pachtinger GE, Drobatz K (2008). Assessment and Treatment of Hypovolemic States. In Morais HA & DiBartola SP (Eds). *Advances in Fluid*,

Electrolyte, and AcidBase Disorders in Small Animal Practice (4ª Edição). Philadelphia, Elsevier Saunders: 629-640.

Pachtinger G (2013). Monitoring of the emergent small animal patient. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 43(4):705-720.

Parks DA, Granger DN (1986). Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *The American journal of physiology*:749–53.

Park PO (1990). The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery.* 107(5):574–80

Pascoe PJ (2012). Perioperative management of fluid therapy. In S. P. DiBartola, *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice* (4ª edição). Missouri: Elsevier Saunders.17:405-435

Pina R (2014). Projeto de aplicação de cuidados anestésicos na monitorização de situações clínicas de hipoperfusão orgânica

Piriou V (1999). Effects of propofol on haemodynamics and on regional blood flows in dogs submitted or not to a volaemic expansion. *European journal of anaesthesiology.* 16(9):615–621.

Pizzolato L, Krause M, Takahashi H (2016). Sistema digestivo. *Anatomia e fisiologia de Seeley* (10ª edição). 24:881-888

Plunkett SJ (2013). Supportive therapy. In S. J. Plunkett, *Emergency procedures for the small animal veterinarian* (3ª edição). London: Elsevier Saunders. 1:1-52.

Porter AE, Rozanski E, Sharp CR, Dixon KL, Price LL, Shaw SP (2014). Evaluation of the shock index in dogs presenting as emergencies.

Proskuryakov SY, Konoplyannikov AG, Gabai VL (2003). Necrosis: a specific form of programmed cell death? *Experimental cell research*, 283(1):1–16.

Puyana JC (2005). Resuscitation of hypovolemic shock. In M. P. Fink, *Textbook of critical care*. St.Louis: Saunders.:1933.

Quireze C, Montero EF, Leitão RM, Juliano Y, Fagundes DJ, Poli-de-Figueiredo LF (2006). Ischemic preconditioning prevents apoptotic cell death and necrosis in early and intermediate phases of liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Investigative Surgery*. 19 (4): 229-236.

Robinson JW (1981). Response of the intestinal mucosa to ischaemia. 22(6):512–527.

Ross J, Murtaugh RJ, Moore K (2002). Shock I: pathophysiology. In Murtaugh. Quick look series in veterinary medicine: Critical care. South Higway, Teton: NewMedia.:60-63

Rudloff E, Kirby R (2001). Colloid and crystalloid resuscitation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 31(6):1207-1229.

Rush BF (1992). The bacterial factor in hemorrhagic shock. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 175(3):285–92.

Samain E (2000). The effect of propofol on angiotensin II-induced Ca(2+) mobilization in aortic smooth muscle cells from normotensive and hypertensive rats. *Anesthesia and analgesia*. 90(3):546–52.

Sethi A, Sharma P, Mohta M, Tyagi A (2003). Shock—A short review. *Indian J Anesth*.

Sharkey LC, Wellman ML (2013). Use of Lactate in Small Animal Clinical Practice. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract*. 43(6):1287-1297.

Silverstein DC, Santoro-Beer K (2015). Daily intravenous fluid therapy. In D. C. Silverstein & K. Hopper, *Small animal critical care medicine* (2ªedição). Missouri: Elsevier Saunders. 59:316-320.

Stephen J, Birchard, Robert G, Sherding (2006). *Saunders Manual of Small Animal Practice*. (3ªedição). ISBN 9780721604220 Saunders Elsevier.

Vollmar B, Menger MD (2011). Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*. 396(1):13–29.

Watson AJ (1995). Necrosis and apoptosis in the gastrointestinal tract. 37(2):165–7.

Wilcox MG (1995). Current theories of pathogenesis and treatment of nonocclusive mesenteric ischemia. *Digestive Diseases and Sciences*. 40(4):709–716.

Young B, Heath JW (2000). Gastrointestinal tract. *Wheater's Functional Histology A Text and Colour Atlas* (4^a edição), Elsevier science. 90 Tottenham court Road, London, W1T4LPIISBN: 0443056129.:249-267.