

EFEITOS DA HEMODILUIÇÃO COM SOLUÇÃO DE RINGER LACTATO ASSOCIADA AO DEXTRAN DE BAIXO PESO MOLECULAR, SOBRE A ESTRUTURA PULMONAR, DURANTE CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA EM CÃES - ESTUDO ULTRAMICROSCÓPICO

The Effects of Hemodilution With Ringer's Lactate and Low Molecular Weight Dextran Association on the Pulmonary Ultrastructure During Extracorporeal Circulation in Dogs

Alceu Gaspar Raiser\*, Sérgio Nunes Pereira\*\*, Maurício Bicca Andujar\*\*\* e Renato da Silva Marques\*\*

RESUMO

Seis cães sem raça definida, pesando de 7,0 a 15,8 kg, foram submetidos a perfusão extracorpórea por 90 minutos, sob hipotermia moderada (27°C). O conjunto coração-pulmão artificial consistiu de bomba de rolete e oxigenador de bolhas. O perfusato constou de solução de Ringer lactato associado ao Dextran de baixo peso molecular (proporção 1:1). As biópsias, tomadas imediatamente antes e ao término da perfusão e examinadas à luz da microscopia eletrônica, não mostraram alteração da estrutura pulmonar conseqüente à circulação extracorpórea. UNITERMOS: perfusão extracorpórea, pulmão, choque, cirurgia.

SUMMARY

Six adult mongrel dogs, weighing 7.0 to 15.8 kg were submitted to extracorporeal perfusion during 90 minutes under moderated hypothermia (27°C). The heart-lung machine were composed by Debakey roller pump and a bubble oxygenator. The oxygenator and tubing were primed with Ringer's lactate solution and low molecular weight dextran (rate 1:1). Biopsy specimens were obtained from the lung of each dog immediately before and then ninety minutes after the perfusion was initiated. These specimens studied under electron microscopes, didn't shown changes in the pulmonary structure induced by extracorporeal circulation. KEY WORDS: extracorporeal perfusion, lung, shock, surgery.

---

\* Professor Adjunto do Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 97.119 Santa Maria, RS.

\*\* Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria.

\*\*\* Professor Assistente do Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria.

## INTRODUÇÃO

Pelo fato de exercer uma função vital, o pulmão requer maior atenção, em indivíduos submetidos à circulação extracorpórea, devido à insuficiência respiratória que se instala no pós-operatório. É, no entanto, ainda durante a perfusão que esta síndrome tem seus fatores desencadeantes (6).

A microembolia tem sido correlacionada como um, senão o principal, fator etiológico do chamado pulmão de choque que se estabelece após perfusões com sangue homólogo conservado em ácido cítrico com dextrose (ACD), durante circulação extracorpórea (1, 8, 12) ou na reposição de volume durante a terapia do choque hemorrágico (4). Por esta razão tem-se procurado excluir o sangue homólogo da perfusão, substituindo-o por soluções salinas ou coloidais (4, 9, 10).

HEPPS et alii (4), medindo a tensão superficial do surfactante pulmonar, verificaram que cães submetidos à circulação extracorpórea prolongada, com hemodiluição, toleravam a perfusão por mais tempo com menor evidência de disfunção da membrana tenso-ativa. As soluções salinas, no entanto, são necessárias em volume de 2 a 3 vezes àquela de sangue perdido (10) e, por não exercerem pressão oncótica, podem diluir as proteínas do plasma a níveis críticos favorecendo a ocorrência de edema (11).

RAISER (9) concluiu que as soluções salinas, no perfusato, causam edema intersticial devido à baixa na pressão oncótica e recomenda a associação com solução coloidal para prevenir o seqüestro de volume durante a perfusão em cães.

KIRBY (5) recomendou, para o tratamento da hipovolemia aguda em gatos e cães, o uso de soluções coloidais como o Dextran, associadas com soluções salinas balanceadas como o Ringer lactato para repor água, eletrólitos e pressão oncótica. Utilizando a solução de Ringer lactato associada ao Dextran na circulação extracorpórea de pacientes humanos, RABELO et alii (8) não encontraram qualquer alteração na ultraestrutura pulmonar, decorrente de perfusões de curta duração.

Para BOGOSSIAN (2), o grau de hemodiluição não deve baixar o hematócrito a menos de 25%. Dentro deste parâmetro a hemodiluição é benéfica por evitar a hemoconcentração e a viscosidade sanguínea (2, 7), as quais favorecem a microtrombose. Por outro lado, WRIGHT (13) observou que quando cães normais eram sangrados e a volemia corrigida com solução salina, até o hematócrito alcançar  $11,5 \pm 4,7\%$ , o consumo de oxigênio do sangue permanecia adequado, com o paciente em repouso.

Visando aproveitar as vantagens da hemodiluição, estuda-se, pela microscopia eletrônica, a influência da solução de Ringer lactato associada ao Dextran de baixo peso molecular sobre a estrutura pulmonar durante 100 minutos de perfusão. É pretendido com esta associação evitar os efeitos indesejáveis da solução de Ringer lactato quando usada isoladamente e em grande volume, na hemodiluição (9), aproveitar as recomendações de KIRBY (5) e obter resultados semelhantes aos de RABELO et alii (8), na espécie canina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 6 cães sem raça definida, com peso variável entre 7,0 e 15,8 kg, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria. Considerado clinicamente sadio, cada animal foi submetido à perfusão extracorpórea durante 100 minutos com perfusato constituído de solução de Ringer lactato\* e Dextran de baixo peso molecular\*\*. Ao perfusato, que constou de 1000 ml por animal, foram adicionados 30 mg de heparina\*\*\* para cada 100 ml de sangue, independente do peso animal, 20.000 UI/kg de Penicilina\*\*\*\* e solução de Bicarbonato de sódio\*\*\*\*\* a 8,4%, na dose de 8 ml/500 ml de volume.

Após jejum de 24 horas, cada animal, já tricotomizado nas regiões inguinal e torácica ventral, foi tranquilizado com Clorpromazina\*\*\*\*\* na dose de 2 mg/kg e, 20 minutos após, anestesiado com Pentobarbital sódico\*\*\*\*\* em solução 3% até efeito. Depois da indução, cada paciente foi entubado com sonda endotraqueal e mantido em respiração controlada mecanicamente com respirador automático\*\*\*\*\*. A manutenção anestésica, quando necessária, foi efetuada com o Pentobarbital sódico.

\* Solução de Ringer com Lactato - Darrow Laboratórios S.A. Largo dos Leões, 80. Rio de Janeiro, RJ.

\*\* Dextran 40 em solução NaCl 0,9% - Darrow Laboratórios S.A. Largo dos Leões, 80. Rio de Janeiro, RJ.

\*\*\* Lique mine - Roche Produtos Quím. e Farm. S.A. Gal. Canabarro, 666 - Caixa Postal, 329. Rio de Janeiro, RJ.

\*\*\*\* Penicilina G Potássica - Squibb Ind. Química S.A. Av. João Dias, 1084 - Caixa Postal, 7225. Santo Amaro, SP.

\*\*\*\*\* Sol. Inj. Bicarbonato de Sódio - J.P. Ind. Farm. S.A. Rua Visconde do Rio Branco, 499 - C.P. 899. Ribeirão Preto, SP.

\*\*\*\*\* Amplictil - Rhodia Ind. Quím. e Têxteis S.A. Av. Antonio Cardoso, 319. Santo André, SP.

\*\*\*\*\* Nembutal - Abbott Lab. do Brasil Ltda. Rua Nova Iorque, 245 - Brooklin - Caixa Postal, 21.111. São Paulo, SP.

\*\*\*\*\* Narcomatic - Narcosul Aparelhos Científicos Ltda. Av. dos Estados, 1455 - Caixa Postal, 3121. Porto Alegre, RS.

Cada animal foi contido em decúbito dorsal com os membros em extensão. A seguir, foram efetuadas antissepsia e delimitação dos campos operatórios com panos estéreis. O tórax foi abordado pelo esterno e os hemitórax separados com afastador autoestático de Finochietto. A seguir o pericárdio foi aberto e fixado às margens da incisão torácica para exposição do coração. Na seqüência, a veia âzigos foi ligada temporariamente e feita uma sutura em bolsa com fio de nylon 2-0 no átrio direito para canulação das cavas após a atriotomia. Simultaneamente, a raiz da aorta foi exposta e preparada sutura em bolsa com fio de nylon 4-0 para canulação. Na região inguinal direita foram dissecadas a artéria femural para colocação do catéter destinado à medição da pressão arterial média e a veia femural, para colocação do catéter destinado à medição da pressão venosa central e administração de drogas.

Logo após, foi injetada heparina via venosa, na dose de 4 mg/kg, seguido de canulação das veias cavas, raiz da aorta e conexão ao sistema de circulação extracorpórea, iniciando-se a perfusão após suspensão da ventilação pulmonar e clampeamento da raiz da aorta, bloqueando o fluxo para o coração.

Em todos os casos foram utilizados para perfusão o conjunto coração-pulmão artificial, constituídos por bomba de roletes\* e oxigenador de bolhas\*\*. Os animais permaneceram sem ventilação artificial dos pulmões por 100 minutos. Foi empregado, no oxigenador, oxigênio puro durante toda perfusão, com fluxo de 1,5 l/min.

O fluxo de perfusão teve os dados controlados nos seguintes tempos:  $t_1 = 5$  minutos;  $t_2 = 10$  minutos e os demais,  $t_3$  a  $t_{11}$ , a cada 10 minutos, até 100 minutos de perfusão.

Foi feito controle da pressão venosa central aferida por manômetro de água, adaptado ao catéter da veia cava posterior e da pressão arterial média, por manômetro de mercúrio adaptado ao catéter da aorta torácica. Para reposição de volume foi utilizada a solução de Ringer lactato, baseado nos dados de perfusão e retorno venoso durante a perfusão. O hematócrito foi determinado imediatamente antes e ao término da perfusão. A temperatura corporal foi medida com termômetro de variação contínua adaptado ao esôfago.

\* Bomba de Roletes de Bakey. Oficinas do Hospital de Clínicas, São Paulo, SP.

\*\* Blood Oxygenator Disposable - Infant Size Q-130. Bentley Laboratories Inc. Califórnia, USA.

Foram feitas biópsias do pulmão esquerdo. A metade foi fixada em formol 10% para microscopia óptica e o restante em solução de glutaraldeído a 2% para estudo em microscopia eletrônica.

As colheitas foram feitas imediatamente antes e após a perfusão para verificar apenas a influência da mesma. A seguir, os animais foram sacrificados.

Os fragmentos de biópsia destinados à microscopia óptica foram corados pela hematoxilina-eosina e incluídos em parafina.

Os fragmentos destinados ao estudo ultraestrutural, imediatamente após a colheita, foram fixados em glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato 0,1 M, pós-fixados em ácido ôsmico a 1%, desidratados em álcool e óxido de propileno e incluídos em EPON. Os cortes semi-finos foram corados pelo azul de toluidina e os ultra-finos contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo segundo Reynolds e observados em Microscópio Eletrônico Zeiss EM-10.

Os estudos de ultraestrutura foram feitos com microscópio eletrônico Zeiss modelo EM-10 da seção de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Maria.

## RESULTADOS

Os parâmetros relativos ao peso de cada cão, pressão arterial média, pressão venosa central, fluxo de perfusão e volume total de perfusato estão distribuídos na Tabela 1.

A Tabela 2 indica as médias e desvio padrão respectivo do fluxo de perfusão nos diferentes tempos a que os animais foram submetidos à circulação extracorpórea.

Além dos 1000 ml de perfusato usados como padrão inicial em cada animal, a necessidade de adicionar volume suplementar para manter a perfusão não foi significativa (Tabela 1) e requerida apenas em 3 cães.

Os valores médios do hematócrito foram de  $36,0 \pm 3,9$  antes e  $17,04 \pm 2,1$  após a perfusão. A temperatura esofágica mínima alcançada durante a perfusão extracorpórea foi de  $27^{\circ}\text{C}$ .

Pela microscopia óptica não foram detectadas alterações histopatológicas decorrentes da perfusão. Pela microscopia eletrônica foi observada neutrofilia intravascular com neutrófilos íntegros e degenerados (Figura 1). No plasma foi encontrada escassez de glicoproteínas (Figura 2) e pneumócitos evidenciando muitos corpos lamelares (Figura 3). Não houve achado de edema, trombose ou lesão endotelial.

TABELA 1. Distribuição dos animais conforme peso, pressão arterial média, pressão venosa central, fluxo de perfusão e volume total de perfusato.

Cão nº	Peso (kg)	PAM* (mmHg)	PVC** (cmH <sub>2</sub> O)	Fluxo de perfusão (ml/min.)											Volume (ml)			
				t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>7</sub>	t <sub>8</sub>	t <sub>9</sub>	t <sub>10</sub>	t <sub>11</sub>	Ringer	Dextran		
1	15,8	52,3	11,0	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	600	500
2	7,0	49,2	8,6	120	128	128	128	128	128	137	137	137	137	137	137	137	500	500
3	9,0	44,0	6,0	106	106	106	106	86	86	86	86	86	86	86	100	100	650	500
4	10,0	47,8	7,0	108	108	108	108	108	108	108	108	75	75	75	75	75	500	500
5	7,5	51,4	6,2	102	102	90	90	90	90	98	98	98	98	105	105	105	600	500
6	9,0	41,0	5,1	120	120	120	120	120	120	92	92	92	92	92	80	80	500	500

\* PAM = pressão arterial média.

\*\* PVC = pressão venosa central.

TABELA 2. Valores médios e desvio padrão do fluxo de perfusão (ml/min) dos animais submetidos à circulação extracorpórea com hemodiluição total.

Tempo	Média	Desvio Padrão ( $\pm$ )
t <sub>1</sub>	106,00	14,75
t <sub>2</sub>	107,33	16,52
t <sub>3</sub>	105,33	17,96
t <sub>4</sub>	105,33	17,96
t <sub>5</sub>	102,00	19,59
t <sub>6</sub>	100,16	20,47
t <sub>7</sub>	94,66	22,30
t <sub>8</sub>	94,66	22,30
t <sub>9</sub>	95,83	22,69
t <sub>10</sub>	96,16	42,48
t <sub>11</sub>	96,16	42,48

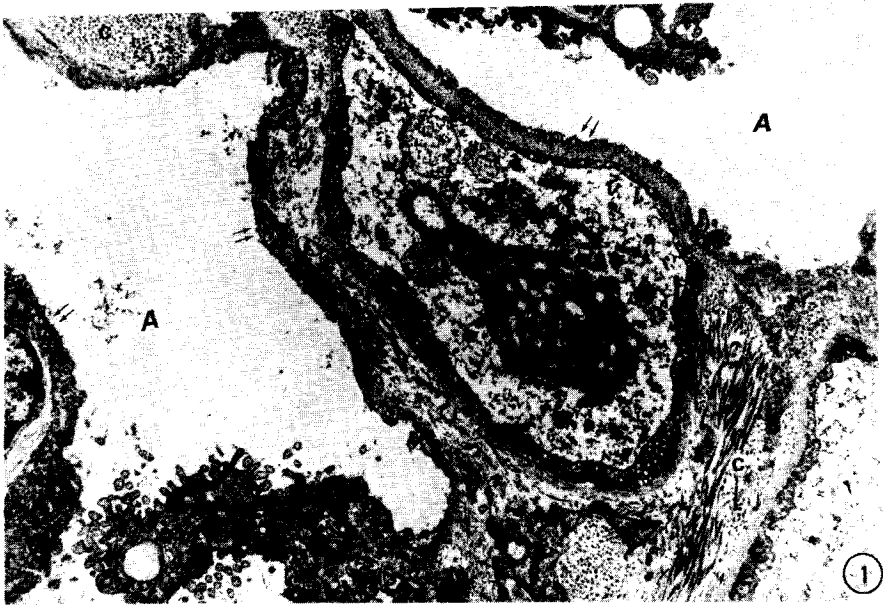


FIGURA 1. Microfotografia eletrônica do pulmão após 100 minutos de perfusão com hemodiluição total. Presença de neutrófilo alterado (N) na luz capilar (v). Pneumócito granular (P<sub>II</sub>) com microvilosidades preservadas. Ausência de edema no tecido colágeno (c). A - alvéolo; E - endotélio; (setas) - epitélio alveolar. (Aumento de 6.300X)

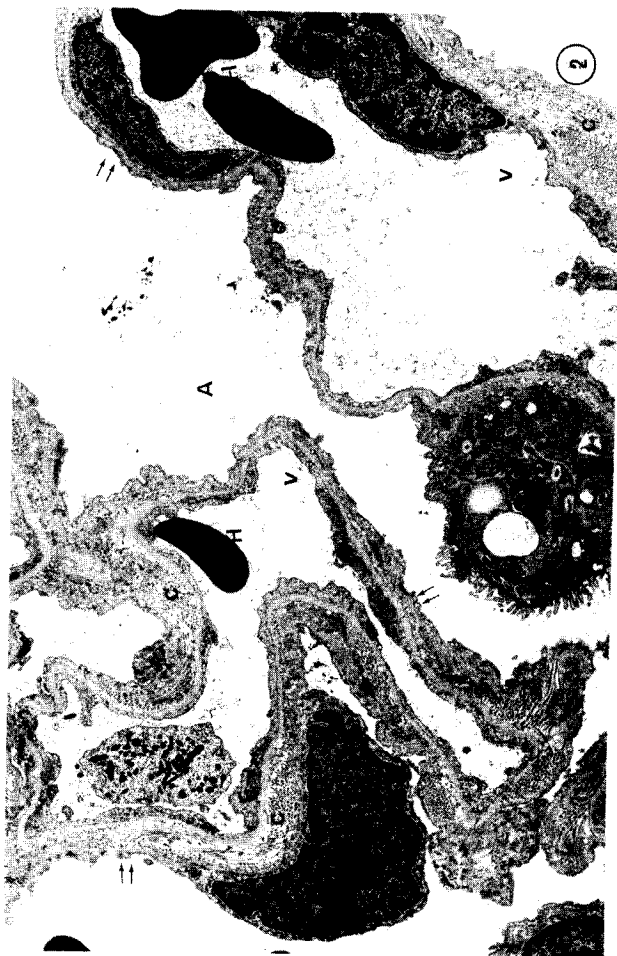


FIGURA 2. Microfotografia eletrônica do pulmão após 100 minutos de perfusão com hemodiluição total. Observar a escassez de glicoproteínas na luz vascular (v). A - alvéolo; c - fibras de colágeno; E - endotélio; H - hemácia; N - neutrófilo; P II - pneumócito granular; (setas) - epitélio alveolar. (Aumento de 6.300X)



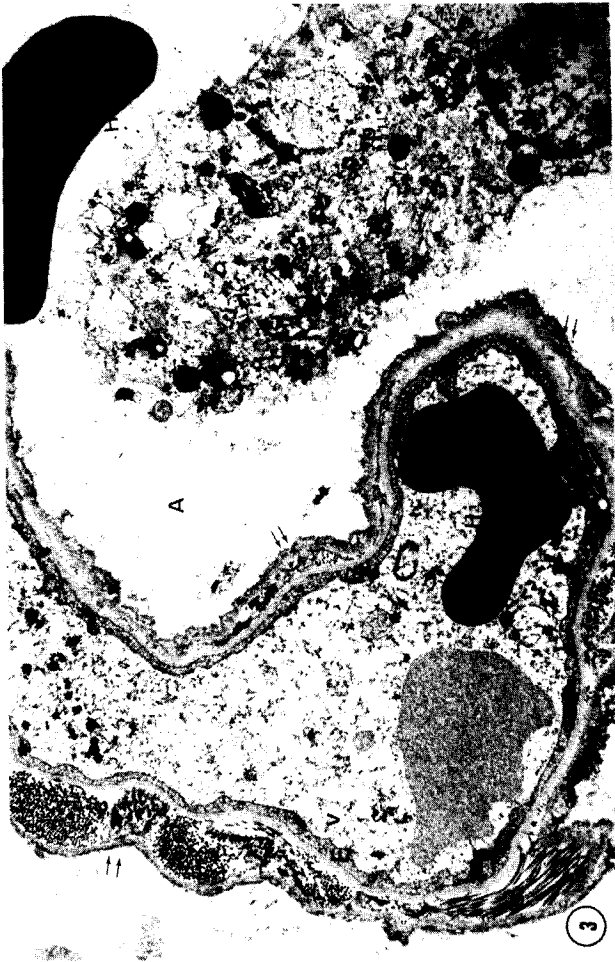


FIGURA 3. Microfotografia eletrônica do pulmão após 100 minutos de perfusão com hemodiluição total. Pneumócito granular (PII) evidenciando corpos lamelares (cl) e integridade das microvilosidades. A - alvéolo; c - fibras colágenas; E - endotélio; H - hema-  
cea; V - capilar pulmonar; (setas) - epitélio alveolar. (Aumento de 8000X)

## DISCUSSÃO

A hemodiluição é largamente utilizada na medida que combate a hemoconcentração e viscosidade sanguínea citadas por BOGOSSIAN (2) e PUTNAN et alii (7). A substituição do sangue homólogo conservado em ACD por soluções sintéticas como o Ringer lactato e Dextran 40 previne a microtrombose que acompanha a reposição de volume no choque (3) ou a perfusão extracorpórea (1, 8, 12). Neste experimento procurou-se utilizar em cães a associação experimentada por RABELO et alii (8) na perfusão extracorpórea em humanos e recomendada por KIRBY (5) para cães e gatos no tratamento da hipotensão aguda.

O uso do Dextran não previne a queda do hematócrito, mas mantém a pressão oncótica em níveis inclusive superiores aos da seroalbumina. Este efeito será refletido nos resultados obtidos pela microscopia eletrônica que caracterizam a ausência de edema pulmonar em presença de diluição aguda das proteínas do plasma. Portanto, a associação com a solução de Ringer lactato, conforme recomendaram ROSS & ANGARAN (10) e WEBB (11), na proporção experimentada nesta pesquisa, corrige aquelas alterações citadas por RAISER (9) como decorrentes do uso isolado da solução salina no perfusato. A pequena quantidade de volume suplementar necessária no perfusato de 3 cães (Tabela 1), e desnecessária nos demais, demonstra a ausência de seqüestro de volume, um fenômeno indesejável que frequentemente acompanha a perfusão com soluções sem poder oncótico.

A diminuição do hematócrito a níveis aparentemente críticos, se enquadrado dentro dos limites preconizados por BOGOSSIAN (2), não chega a ser comprometedora se comparada com as pesquisas de WRIGHT (13). Apesar desta diluição aguda, os dados de microscopia não são sugestivos de hipóxia tecidual. A integridade dos pneumócitos granulares, dependente de adequada oxigenação, indica manutenção de sua função, conservando a ação tenso-ativa do surfactante pulmonar, substância produzida pelos corpos lamelares dos mesmos. Este resultado está em acordo com aqueles verificados por HEPPS et alii (4). Recomenda-se, no entanto, a avaliação paralela do equilíbrio ácido-básico para confirmação.

A presença de neutrófilos degenerados, possível consequência de traumatismo produzido pela bomba de roletes e oxigenador de bolhas, lembra a liberação de enzimas a partir de seus lisossomos, conforme observou WILSON (12). Os resultados obtidos nos cães estudados não evidenciam, no entanto, comprometimento da estrutura pulmonar. Isto possivelmente seja devido ao efeito protetor da hipotermia.

Pelo fato da perfusão extracorpórea apresentar no pulmão alterações morfológicas ultraestruturais semelhantes àquelas descritas após choque hemorrágico (12), a associação do Ringer lactato com o Dextran 40, na proporção experimentada, pode ser recomendada para o tratamento da hipotensão aguda.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que a solução de Ringer lactato associada ao Dextran 40, na proporção aproximada de 1:1, previne a ocorrência de alterações morfológicas ultraestruturais no pulmão, durante perfusão extracorpórea por 100 minutos, em condições de hipotermia.

## LITERATURA CITADA

1. ASHMORE, P.G.; SWANK, R.I.; GALLERY, R.; AMBROSE, P. & KATHLEE, H. Effect of Dacron wool filtration on the microemboli phenomenon in extracorporeal circulation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 63(2):240-8, 1972.
2. BOGOSSIAN, L. *Choque*. 3ª ed Rio de Janeiro, Atheneu, 1976. 433 p.
3. HALLET, I.W.; SNEIDERMAN, C.A. & WILSON, J.W. Pulmonary effects of arterial infusion of filtered blood in experimental hemorrhagic shock. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 138(4):517-23, 1974.
4. HEPPS, S.A.; ROE, B.B.; WRIGHT, R.R. & GARDNER, R.E. Amelioration of the pulmonary postperfusion syndrome with hemodilution and low molecular weight Dextran. *Surgery*, 54:232-42, 1963.
5. KIRBY, R. Fluid therapy for acute patient. In: AAHA'S ANNUAL MEETING, 52, Indiana, USA, s.d. *Proceedings...* Indiana, AAHAS, 1985. p. 156-61.
6. PENNOCK, J.L.; PIERCE, W.S. & WALDHAUSEN, J.A. The management of lungs during cardiopulmonary bypass. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 145(6):917-27, 1977.
7. PUTNAN, T.C.; KEVI, S.V. & REPLOCE, R.L. Factors influencing the viscosity of blood. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 124(3):547-52, 1967.
8. RABELO, R.C.; OLIVEIRA, S.H.; TANAKA, H.; WEIGL, D.R.; VERGINELLI, G. & ZERBINI, E.J. The influence of the nature of the prime on postperfusion pulmonary changes. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 66(5):782-93, 1973.
9. RAISER, A.G. *Observações ultramicroscópicas sobre lesões pulmonares decorrentes da circulação extracorpórea em cães*. Santa Maria, UFSM. 1980. 45 p. (Tese Mestr. Med. Veterinária)
10. ROSS, A.D. & ANGARAN, D.M. Colloids Vs. Crystalloids - A continuing controversy. *Drug. Intell. and Clin. Pharm.*, 18(3):202-12, 1984.

11. WEBB, A.I. Fluid therapy in hypotensive shock. *Vet. Clin. North. Amer.*, 12(5):515-31, 1982.
12. WILSON, J.W. The pulmonary cellular and subcellular alterations of extracorporeal circulation. *Surg. Clin. North. Amer.*, 54(5):1203-21, 1974.
13. WRIGHT, C.J. The effects of severe progressive hemodilution on regional blood flow and oxygen consumption. *Surgery*, 79(3): 229-305, 1976.