

CAPÍTULO 38

Fisiologia da Reposição Volêmica: Aspectos Imunológicos

Cláudia Regina Fernandes, TSA/SBA*
Antonio Rubens Cordeiro Filho**

Introdução

O Choque hemorrágico que acontece em vítimas de trauma, é importante causa de morbidade e mortalidade na população em geral¹. A reação precoce do organismo em resposta a injúria traumática e hemorrágica é caracterizada por excessiva ativação do sistema imune e intensa reação inflamatória². Pesquisas sugerem forte ligação entre disfunção imune e complicações pós-traumática, tais como disfunção de múltiplos órgãos e sepsis³. A regulação da inflamação é geralmente considerada como resposta benéfica do hospedeiro à injúria⁴, enquanto a hiperinflamação pós-traumática seguida de incompetência imunológica são consideradas respostas mal-adaptativas e auto-destrutivas².

Um dos princípios fundamentais aplicados ao manejo do choque hemorrágico é a precoce administração de fluidos e produtos sanguíneos, a fim de corrigir a deterioração do estado hemodinâmico. O uso de soluções cristalóides tem sido considerado terapia de primeira linha. Entretanto recentes evidências sugerem que soluções cristalóides isotônicas podem agravar a disfunção imune⁵ em indivíduos vítimas de choque hemorrágico. Em contrapartida, um número de estudos experimentais revela que soluções hipertônicas têm favoráveis efeitos imunomodulatórios na ativação glóbulos brancos induzida por hemorragia-ressuscitação^{6,7,8,9}.

Dados derivados de estudos de leucócitos humanos *in vitro*, assim como modelos de choque hemorrágico em animais, propuseram que a hipertonidade diminua a aderência/ativação dos neutrófilos^{10,11,12,13}, estimula a proliferação linfocitária¹⁴, inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias e estimula a produção de citocinas anti-inflamatória por monócitos e macrófagos^{15,16,17,18,19}.

* Doutora em Medicina pela Universidade de São Paulo – Área de Concentração: Anestesiologia
Responsável CET/SBA – Hosp Universitário Walter Cantídio-Universidade Federal do Ceará
Coordenadora da Anestesiologia do Serviço de Transplante Hepático do Ceará – Hosp Universitário Walter Cantídio –UFC

** ME-I CET/SBA – Hosp Universitário Walter Cantídio-Universidade Federal do Ceará

Em modelos in vivo, a estratégia de ressuscitação volêmica com soluções salinas hipertônicas (NaCl 7,5% - 4ml.kg⁻¹), demonstraram propriedades anti-inflamatórias e imunológicas em pacientes apresentando choque hemorrágico, vítimas de trauma. Mostrando que quando administrado em fases precoces da ressuscitação, solução hipertônica associado à dextran exerce profundo efeito imunomodulatório, promovendo balanceada resposta pro- e anti-inflamatória²⁰. Consistente com modelos experimentais onde efeitos similares foram ligados a redução das complicações pós-traumáticas, incluindo disfunção de múltiplos órgãos e sepsis, sendo, portanto sugerido que, a infusão de solução salina hipertônica pode amenizar as conseqüências prejudiciais advindas da função imune em situações de trauma, choque, reperfusão e grande cirurgia.

O objetivo deste capítulo é abordar sobre as conseqüências imunológicas do choque hemorrágico, discorrer sobre as repercussões no sistema imune relacionadas a diferentes soluções usadas para restaurar a volemia, tão bem como os efeitos imunomodulatórios da solução hipertônica usada no manejo do choque hemorrágico.

Conseqüências imunológicas do choque hemorrágico

A resposta precoce do organismo a injúria traumática e hemorrágica é caracterizada por excessiva ativação do sistema imune e por esmagadora reação inflamatória. Estudos sugerem que há forte ligação entre disfunção imune e complicações pós-traumáticas, tais como disfunção de múltiplos órgãos e sepsis³.

As duas ramificações principais do sistema imune são o linfócito derivado do timo (T) e o linfócito derivado da medula óssea ou bursa equivalente (B), ambos derivados de uma célula indiferenciada comum. As células T são os efetores primários da imunidade celular, com subgrupos de célula T amadurecendo em células específicas capazes de lisar outras células estranhas ou infectadas por vírus. Os linfócitos maduros contribuem com 70 a 80% dos linfócitos sanguíneos periféricos.

A função imune adaptativa (adquirida) baseia-se em seleção, expansão e diferenciação clonal de células B e T em células de memória e efectoras, incluindo Linfócitos T helper²¹. Os linfócitos T helper dão suporte e controlam as células do sistema imune adaptativo através da secreção de várias citocinas. Existem dois subtipos: Linfócitos T helper 1 secretam IL-2 e interferon- γ , facilitando a ativação dos macrófagos e citotoxicidade T- mediada, enquanto linfócitos T helper 2 secretam IL-4, 5, 6 e 10, e ajudam as células B a produzir anticorpos²².

Cirurgia e injúria tissular acidental desviam o equilíbrio em direção aos linfócitos T helper 2, levando à down-regulation da resposta imune mediada por células, e imunossupressão proporcional à extensão da injúria tecidual²³.

Estudos em culturas de células e animais, sugerem que a hipertonicidade extracelular incrementa a proliferação de células-T e que a infusão salina hipertônica pode reduzir a imunossupressão celular que normalmente ocorre após o trauma⁸.

As células B maduras representam no homem 10-15% dos linfócitos B do sangue periférico. As células B expressam em sua superfície moléculas de imunoglobulina intramembrana que funcionam como receptores de antígeno. A função primordial das células B é a produção de anticorpos. As células B maduras deriva de células precursoras da medula óssea, que se formam continuamente durante toda a vida. Estas são continuamente substituídas a intervalos de poucos dias, através da divisão celular de células precursoras medulares. As células B maduras mediante contato com antígeno, nos gânglios linfáticos periféricos e no baço, sofrem diferenciação transformando-se em plasmócitos secretores de anticorpos ou proliferam, formando populações de células B de memória de vida longa que conseguem interagir com o mesmo antígeno se houver um novo estímulo.

Outros tipos de células como monócito e macrófagos, tem uma participação importante nas fases indutoras, reguladoras e efetoras da resposta imune. As principais células efetoras e reguladoras do sistema imune são os linfócitos T e B, os monócitos e macrófagos.

Os monócitos, se originam de células precursoras na medula óssea, possuem meia-vida de circulação que varia de 1 a 3 dias. Os monócitos deixam a circulação periférica através da marginação capilar com posterior migração para um grande reservatório extravascular. Os macrófagos teciduais são oriundos da migração dos monócitos a partir da circulação e pela proliferação de precursores de macrófagos nos tecidos. Os monócitos humanos compreendem várias subpopulações com fenótipos e propriedades funcionais distintas. A principal população de monócitos “clássicos” é a CD14 fortemente positiva (CD14⁺⁺) e CD16 negativa. Um subtipo menor é CD14 fracamente positivo com CD16 positivo (CD14⁺, CD16⁺)²⁴. Estes monócitos chamados pró-inflamatórios expressam prontamente TNF- α , mas falham em produzir quantidades significativas de IL-10²⁵. Na verdade, eles são comparados a “macrófagos circulantes”, que são seletivamente mobilizados (via mecanismos β -adrenérgicos) do pool marginal durante situações de estresse.

Os macrófagos, derivados dos monócitos originários do sangue, são parte do sistema imune inato(não-específico). Têm três funções principais:

1. Localizam, fagocitam e matam patógenos através de metabólitos reativos do oxigênio, proteínas citotóxicas e enzimas hidrolíticas²²;

2. Processam o material fagocitado e expressam pequenos peptídeos associados a moléculas do complexo de histocompatibilidade maior para os linfócitos T helper, a fim de estimular a resposta imune adaptativa²⁶;

3. Secretam citocinas pro e antiinflamatórias, desempenhando um importante papel na orquestração da resposta inflamatória²⁶.

Os granulócitos, neutrófilos, basófilos e eosinófilos, são encontrados em quase todas as formas de inflamação e são amplificadores inespecíficos e efetores de resposta inespecíficas. O acúmulo e a ativação sem controle de granulócitos podem levar a lesão tecidual no hospedeiro. Os granulócitos derivam de células indiferenciadas na medula óssea.

Os neutrófilos apresentam determinadas características, a saber:

Quimiotaxia - É a habilidade que os neutrófilos têm de migrar, e é uma importante função quando os patógenos estão presentes nos tecidos. A fagocitose dos neutrófilos humanos denota a habilidade dos neutrófilos (e macrófagos) de englobar bactérias ou outras partículas. A fagocitose de bactérias opsonizadas parece estar aumentada entre 300 e 450mOsm/Kg⁻¹

Descarga oxidativa e degranulação - É a capacidade de produzir espécies reativas de oxigênio, como superóxido(O₂⁻) e enzimas proteolíticas (p.ex.: elastase e mieloperoxidase), é fundamental para a atividade antimicrobiana dos neutrófilos. Quando os neutrófilos são ativados, O₂⁻ é gerado e grânulos contendo enzimas fundem-se com a membrana celular. Conseqüentemente, a capacidade de descarga oxidativa e degranulação tem sido usada como marcadores da atividade dos neutrófilos e relacionadas ao potencial destrutivo destas células. Geralmente, a formação de espécies reativas de oxigênio está reduzida na presença de meio extracelular hipertônico, de uma maneira dose e tempo dependente, mas somente se a hipertonicidade estiver estabelecida antes da estimulação dos neutrófilos. Consistente com esses achados, neutrófilos de animais ressuscitados de choque hemorrágico com solução salina hipertônica, demonstraram formação prejudicada de espécies reativas de oxigênio comparado a animais ressuscitados com ringer lactato. A rotura oxidativa e a degranulação são duas funções separadas, porém ambas estão inibidas em meio hipertônico. Aguardam-se ainda estudos pormenorizados em humanos sobre a infusão salina hipertônica e o efeito sobre a capacidade de rotura oxidativa



Os neutrófilos são as células brancas mais frequentes da medula óssea. Junto com os macrófagos elas estão entre as primeiras que se apresentam em resposta ao estímulo nocivo, tais como: injúria tissular, dano devido à isquemia reperusão e infecção bacteriana. Os neutrófilos representam uma parte do pivô do sistema imune, entretanto, a ativação excessiva pode levar a dano tissular que varia de injúria pós reperusão a síndrome do estresse respiratório agudo. Após ativação, os neutrófilos perdem suas moléculas de adesão de baixa afinidade endotelial (L-selectinas), passando a apresentar expressão de moléculas de adesão de alta afinidade (α -2 integrinas) para células endoteliais ativadas. Os neutrófilos param de rolar, se tornam firmemente agarrados ao endotélio, passam através da parede dos vasos, se movem através de um gradiente quimiotático, promovendo fagocitose, descarga oxidativa e degranulação^{8,26}.

As células natural killers(NK) são células imunes inatas capazes de matar células anormais, tais como células tumorais ou infectadas²². Elas possuem receptores que reconhecem moléculas na superfície de todas as células nucleadas. Na ausência de sinais inibitórios originados pelas moléculas do complexo maior de histocompatibilidade classe I, as células NK matam outras células, inserindo proteína formadora de poro na membrana da célula alvo e injetando-a com substâncias indutoras de apoptose. Anestesia e cirurgia aumentam transitoriamente o número e atividade das células NK, seguindo-se um declínio no número e atividade destas células²⁶. Trauma acidental e queimadura suprimem a citotoxicidade destas células²⁷. Estudos prévios concluíram que a ressuscitação salina hipertônica reverteu o declínio na atividade das células NK induzido pela hemorragia e reduziu a translocação bacteriana em ratos. Não está claro, no entanto, se o efeito é devido à hipertonicidade ou à ressuscitação.

A ativação aberrante do sistema inflamatório executa um papel chave, sendo responsável por muitas das mortes e complicações em pacientes vítimas de trauma, e grandes cirurgias^{28,29}. Teoricamente o sistema imune é desenhado para combater invasões de corpos estranhos e reparar tecidos danificados. Entretanto, a ativação exuberante do sistema imunológico resulta em inflamação sistêmica, que pode ser deletéria para o hospedeiro. Esta aberrância pode levar a perda da integridade endotelial capilar depois do choque hemorrágico em pacientes vítimas de trauma. Clinicamente isto pode levar a sequestração de fluidos (edema), ou progressão para injúria pulmonar aguda, síndrome do estresse respiratório agudo, síndrome da resposta inflamatória sistêmica e síndrome da disfunção de múltiplos órgãos³⁰. Neutrófilos ativados tem sido implicado como mediadores patogênicos da injúria tissular e em particular do sistema microcirculatório. O passo crítico é a adesão dos neutrófilos ativados³¹. A interrupção da ativação, tão bem como a adesão entre o neutrófilo e o endotélio, são fatores que diminuem ou que podem prevenir a lesão tissular e a injúria dos órgãos³².

Citocinas são proteínas solúveis de baixo peso molecular, envolvidas na regulação da atividade celular, particularmente, mas não exclusivamente, no sistema imune. Elas exercem funções autócrina, paracrina ou de mensageiros endócrinos e são encontradas em baixas concentrações no sangue periférico sob condições fisiológicas. Em indivíduos saudáveis há um balanço entre citocinas que exercem atividade pro-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucinas (IL)-1 α , IL-2, IL-6 e IL-8, e citocinas anti-inflamatórias, IL-4, IL-10, e IL-1³³. Injúrias tissulares maiores ou infecção perturbam este equilíbrio. Resposta persistente e exagerada de citocina pro-inflamatória pode contribuir para falência de órgãos. O ambiente hipertônico interfere com a expressão e secreção de citocinas. Em humanos este tópico ainda está sendo estudado, necessitando de mais pesquisas que expliquem a influencia da infusão de solução salina hipertônica na função dos macrófagos e secreção de citocinas.

Dados recentes sugerem que agressiva ressuscitação com fluidos pode não ser benéfica em pacientes vítimas de trauma com choque hemorrágico³⁴. Em modelo animal de choque hemorrágico

tem-se sugerido que a ativação de neutrófilos pode ser devido ao tipo de fluido usado e não necessariamente ser o resultado da ressuscitação³⁵. Embora o efeito dos fluidos de ressuscitação tenha sido estudado extensivamente sobre as hemácias e restauração do volume intravascular, sobre a resposta imune ainda não está totalmente claro.

A ressuscitação após o choque hemorrágico é reconhecida como o tempo em que a injúria de reperfusão ocorre. Embora a isquemia dos tecidos determine a extensão da injúria de reperfusão, está se tornando mais evidente que a injúria ocorre quando o sistema imune é ativado durante a ressuscitação³⁶. Esta resposta elicitada um aumento na cascata da reação inflamatória, que afeta os leucócitos, incluindo neutrófilos, que estão na microcirculação. A interação do endotélio ativado e leucócitos resulta na perda da integridade da microcirculação e diminuição da perfusão. Com propagação adicional da isquemia tissular, ativação do sistema inflamatório e danos nos tecidos através da liberação de radicais reativos de oxigênio e citocinas³⁷. Estudos têm demonstrado que o aumento da liberação de citocina está associada com síndrome do estresse respiratório agudo e síndrome de disfunção de múltiplos órgãos em pacientes vítimas de trauma³⁸.

Soluções usadas para restaurar a volemia e suas repercussões na imunidade

Desde a introdução dos fluidos de ressuscitação, pensou-se que fossem relativamente inócuos. Os efeitos dos fluidos de ressuscitação tem sido estudados extensivamente nas hemácias, tão bem como suas habilidades para restaurar o volume vascular circulante³⁹. Entretanto o efeito destes fluidos na resposta imunológica ainda está sob investigação.

Foram estudados em humanos voluntários os efeitos de diversos fluidos de ressuscitação na função dos neutrófilos⁵. Sendo usado, solução fisiológica (NaCl-0,9%), solução de Ringer lactato, Dextran-40, hespan 6%, albumina 25%, albumin 5% (albumin 25% diluída com solução salina estéril com 140 mmol NaCl) e solução salina hipertônica (SH) 3.5% e 7.5%. Os dados deste estudo demonstram que neutrófilos em todo o sangue são ativados e expressões de adesão estão aumentadas com soluções cristalóides e coloidais artificiais. O efeito foi dose responsiva, e não foi do processo dilucional, por que o uso de solução de albumina humana a 25% não demonstrou nenhum efeito nos neutrófilos, como também soluções de albumina a 5%. Albumina humana é conhecida como varredor de radicais livres, ela não previne o aumento na espécie reativa de oxigênio intracelular ou o aumento nas moléculas de adesão. A capacidade de tamponamento da albumina pode ter contribuído para este efeito. O aumento na concentração extracelular de sódio pelo uso de solução salina hipertônica causou diminuição na ativação e adesão dos neutrófilos, como demonstrado por outros autores⁴⁰. As alterações no pH, composição de eletrólitos, e osmolalidade também não puderam ser identificadas como as únicas fontes de ativação dos neutrófilos. Pois, mesmo com a ativação aumentada dos neutrófilos, o pH não foi dramaticamente alterado com uso de cristalóides ou colóides artificiais. É possível que a albumina seja o componente que ajuda na prevenção da resposta dos neutrófilos. Estes mesmos autores determinaram o grau de ativação dos neutrófilos causado por choque hemorrágico e ressuscitação através de estudo experimental em suínos, nos quais foi promovido choque hemorrágico por retirada de 40% do volume sanguíneo dos animais, durante período de 1 hora. Observou-se aumento significativo na ativação dos neutrófilos imediatamente após a hemorragia, entretanto, esta ativação foi maior após ressuscitação com ringer lactato, tendo sido também observado ativação dos neutrófilos com o simples uso de ringer lactato sem promoção de hemorragia, mas não após ressuscitação com o sangue do próprio suíno ou solução salina hipertônica, sugerindo que a ativação dos neutrófilos pode ser um mecanismo causado pela solução de ringer lactato e não pela reperfusão.



Solução hipertônica no manejo do choque hemorrágico e seus efeitos imunomodulatórios

A observação de Velasco, Pontieri, Rocha e Silva e Lopes, em 1980, relatando os efeitos do uso de soluções salinas a 7,5% a cães em choque hemorrágico grave (perda sangüínea equivalente a 50% da volemia original), despertou interesse pelo tema. A administração de 4ml.kg^{-1} de NaCl 7,5% provocava imediata restauração parcial da pressão arterial e do débito cardíaco, elevação da osmolaridade plasmática em cerca de $20\text{-}30\text{mOsm.L}^{-1}$ e da concentração plasmática de sódio em cerca de $10\text{-}15\text{mEq.L}^{-1}$, correção quase completa da acidose metabólica provocada pelo quadro de hipotensão hemorrágica, expansão transitória da volemia, postulada então como dependente da transferência de fluido intersticial para o território intravascular e sobrevida indefinida, quando comparada com efeitos de uma injeção de placebo (4ml.kg^{-1} NaCl a 0,9%)⁴¹.

A adição de 6% dextrana-70 a solução hipertônica de NaCl revelou-se benéfica. Demonstrou-se que esta solução, conhecida como HSD (NaCl a 7,5% + dextrana-70 a 6%), enaltece significativamente o efeito expansor observado para qualquer dos dois solutos, administrados isoladamente. Em comparação com a solução hipertônica de NaCl, a expansão volêmica é mais prolongada, sem perda dos efeitos hemodinâmicos. Em comparação com a solução simples de dextrana, a expansão volêmica é muito mais rápida e o efeito hipertensor da dextrana acompanha-se do aumento do débito cardíaco, provocado pelo sal hipertônico.

Quando se considera a habilidade, de em pequenos volumes de infusão, restaurar a pressão arterial média e a perfusão microvascular, tão bem como promover comprovada segurança aos pacientes, renova-se o interesse em usar solução salina hipertônica, com ou sem dextrana, no manejo de pacientes com choque hemorrágico, pois são efetivos expansores de volume plasmático. A dose usual de 250ml é fácil de transportar e rápida de administrar. Infusão padrão de 4ml.kg^{-1} aumenta o volume plasmático em 2-4 vezes o volume infundido devido à mobilização de água do compartimento intracelular. O efeito de encolhimento dos eritrócitos e de células endoteliais, associado à vasodilatação periférica aumenta o fluxo sangüíneo nutricional, quando se compara a outros fluidos usados no tratamento do choque hemorrágico⁴².

Associado ao efeito de expansibilidade plasmática, foi observado que a hipertonicidade afeta a resposta imune em animais e em culturas de células sangüíneas de humanos e em humanos na vigência de choque hemorrágico. Foi demonstrado que a hipertonicidade suprime a função dos neutrófilos e ao mesmo tempo aumenta a função dos linfócitos T. Sendo assim, a infusão de SH pode amenizar a resposta imunológica em consequência do trauma, choque, reperfusão e cirurgias maiores. Nestas situações clínicas, excessiva ativação dos neutrófilos pode contribuir para disfunção orgânica, um exemplo é a síndrome do estresse respiratório agudo, enquanto a supressão da função imune adaptativa torna o paciente suscetível a infecções. Apesar de efeito salutar em animais e células isoladas, pouca investigação clínica tem abordado as propriedades imunomodulatórias da infusão de solução salina em humanos. Kolsen-Petersen abordou com propriedade sobre estudos *in vitro*, experimentos em animais e ensaios clínicos que investigaram as consequências do uso de SH e seus efeitos no sistema imunológico⁸.

Alterações eletrolíticas após infusão de solução salina hipertônica e efeitos imunológicos

O efeito da hipertonicidade nas células do sistema imune depende da deformação osmótica induzida na membrana celular. A osmolalidade plasmática normal varia de $285\text{-}295\text{mOsm.kg}^{-1}$, e pode ser estimada como $2 \times \text{Na}^+ + (\text{glicose}) + (\text{urea})$ ou $1,06 \times$ osmolaridade plasmática. O Na^+

plasmático aumenta 10-15mM após infusão de 4ml/kg de NaCl 7.5% em grandes animais e humanos normo e hipovolêmicos. Em pacientes vítimas de trauma, o Na⁺ geralmente chega a 150-155mM quando medido 30-60min após infusão de 250ml de NaCl 7,5% com ou sem colóides durante 1-5 minutos. O sódio plasmático excedeu a 155mM em 10% dos pacientes vítimas de trauma recebendo bolus de 250ml de solução salina hipertônica 7,5%/dextran 70 (HSD). Embora estes baixos níveis de hipertonicidade influenciem células imunológicas *in vitro*, a significância clínica ainda está sendo estabelecida.

Os eventos intracelulares que levam a modulação hipertônica da função das células do sistema imune têm sido estudados em neutrófilos, células T e macrófagos. Levando a conclusão que o ambiente hipertônico afeta a cascata de sinalização de estresse nas células T, neutrófilos e macrófagos, presumivelmente através da deformação das membranas celulares, embora a existência de um “osmorreceptor” tenha sido proposto. O mecanismo molecular intracelular explica porque o momento da exposição hipertônica parece ser importante para o efeito na função do neutrófilo. Após a ativação, os neutrófilos perdem suas moléculas de adesão de baixa afinidade endotelial, L-selectinas, passando a apresentar um processo de expressão de moléculas de adesão de alta afinidade (α -2 integrinas) para células endoteliais ativadas⁸, o meio hipertônico parece alterar este processo.

Neutrófilos e interação endotelial

O mecanismo de adesão do neutrófilo ao endotélio tem chamado muita atenção, porque a inibição deste processo leva a redução de danos em órgãos e aumento da sobrevivência em modelos animais⁴².

A incubação de neutrófilos humanos em solução salina hipertônica induz a diminuição de α -2 integrinas em células estimuladas. Estes resultados foram confirmados em modelos animais, pois neutrófilos de sangue periférico mostraram reduzida expressão de L-selectina e α -2 integrinas após a infusão de solução salina hipertônica comparada a ringer lactato⁴³.

Entretanto, outros estudos similares não encontraram diferenças na expressão de L-selectinas entre os grupos tratados e até encontraram aumento de expressão de α -2 integrinas⁴⁴.

Estudos em células isoladas e em vários modelos animais sugerem que a hipertonicidade reversivelmente impede quase todas as funções dos neutrófilos (quimiotaxia, fagocitose, descarga oxidativa e degranulação). Sugerindo que a infusão de solução salina hipertônica pode ser uma ferramenta no controle dos neutrófilos durante estados de excessiva inflamação, e talvez até mesmo atenuar a injúria em órgãos alvo mediada por neutrófilos. A hipertonicidade extracelular também inibi a fagocitose e descarga oxidativa dos macrófagos.

Estudos em humanos

Poucos são os estudos clínicos em humanos avaliando a eficácia imunomodulatória da solução salina hipertônica em pacientes portadores de choque hipovolêmico, o mais interessante até então foi o de Rizoli e cols²⁰, que num elegante estudo clínico randomizado, controlado e duplo cego, objetivaram investigar os efeitos imunomodulatórios do HSD (NaCl a 7,5% + dextrana-70 a 6%) em pacientes vítimas de trauma, apresentando choque hemorrágico. Sem alterar padrões de tratamento, os pacientes foram randomizados para receber bolus de 250ml de HSD ou placebo (250ml de NaCl 0,9%). O sangue periférico foi avaliado em momentos diferentes para um número de marcadores inflamatórios celulares e moleculares sabidamente alterados pelo choque/



ressuscitação. Investigou-se então os efeitos do tratamento suplementar com bolus único de HSD nos parâmetros imunes em pacientes com choque hemorrágico pós-trauma.

Até então, estudos em humanos relacionados aos efeitos imunológicos das soluções salinas hipertônicas tinham sido limitados a pacientes cirúrgicos eletivos⁴⁵ ou voluntários sadios⁴⁶. Kolsen-Petersen e cols. não encontraram mudanças significativas em múltiplos índices imunológicos após administração de solução hipertônica a mulheres submetidas a histerectomia abdominal⁴⁵. Angle e cols. similarmente relataram modestas alterações na função imune quando solução hipertônica foi administrado a voluntários sadios⁴⁶. Os mecanismos responsáveis pela diferença entre o estudo de Rizoli e cols.²⁰ e estes não estão claros. Podem estar relacionados ao fato de que os efeitos da hipertonidade são mais pronunciados quando acompanhados por um estímulo inflamatório secundário como hemorragia/ressuscitação. Uma possível explicação é que propriedades da solução hipertônica somente estão evidentes na presença de intensa resposta inflamatória, que poderia não estar presentes em voluntários sadios e pacientes com insulto cirúrgico menor. Assim, pacientes severamente traumatizados provavelmente se beneficiariam mais da terapia com solução salina hipertônica e poderiam ser o foco dos estudos futuros sobre os potenciais benefícios da hipertonidade em atenuar disfunção de múltiplos órgãos. A literatura sugere que os efeitos órgãos protetores da hipertonidade são mais evidentes nos pulmões^{10,11,47}. Em modelos de roedores foi mostrado que a solução hipertônica reduziu os marcadores celulares, histológicos e outros de lesão pulmonar aguda. Apesar de nenhum experimento humano ter sido desenhado especificamente para mensurar este fato, alguns estudos tem relatado efeitos protetores similares na disfunção pulmonar pós-trauma. Por exemplo, Simmas e cols. observaram que crianças com grave lesão da cabeça tratadas com solução hipertônica tiveram significativamente menos síndrome da angústia respiratória aguda que os controles⁴⁸, enquanto Mattox e cols. relataram menor incidência de pneumonia entre pacientes vítimas de trauma ressuscitados com solução hipertônica⁴⁹.

Os neutrófilos são acusados de serem os personagens chave na patogênese das lesões celulares endoteliais e tissulares provocadas por choque hemorrágico, particularmente lesão pulmonar aguda pós-traumática⁵⁰. A inibição da ativação e adesão dos neutrófilos mediada por solução hipertônica tem sido proposta como o principal mecanismo para suas propriedades pneumo-protetoras. Em modelos experimentais de choque hemorrágico um dos mais bem estabelecidos efeitos imunomodulatórios da hipertonidade é sua capacidade de “down-regulation” da expressão de CD62L/CD11b e prevenir o dano orgânico mediado por neutrófilos^{10,12,13}. Um dos maiores achados do estudo de Rizoli foi que a HSD inibiu significativamente a ativação dos neutrófilos, conforme mensurado pela expressão de CD62L/CD11b na superfície celular e CD62L solúvel. Isto sugere fortemente que a ressuscitação com HSD pode ajudar a prevenir lesão orgânica, pela redução de interações desequilibradas neutrófilo-endotélio e migração para tecidos tais como os pulmões.

Os achados de Rizole e cols. também revelaram que HSD inibe a expressão de CD62L/CD11b em monócitos circulantes. Dado o papel dos monócitos como células efetoras inespecíficas, secretando citocinas e regulando a inflamação, este achado adicionalmente sugere que HSD pode ajudar a prevenir lesão tissular difusa pela sua capacidade de limitar a ativação dos monócitos. Esta idéia é apoiada por estudos em pacientes vítimas de trauma que mostraram que a sobrerregulação aguda dos monócitos CD62L e CD11b após injúria está relacionada ao desenvolvimento de disfunção orgânica pós-traumática^{51,52}. Foi observado ainda que o HSD modula diferentemente a mobilização e produção de citocinas em subtipos de monócitos funcionalmente heterogêneos, enquanto hemorragia/ressuscitação produziu uma queda nos monócitos clássicos CD14⁺⁺ e expansão do subtipo pró-inflamatório CD14⁺ CD16⁺, isto é, resposta inflamatória exagerada, HSD causou uma expansão nos monócitos CD14⁺⁺ e uma redução no subtipo CD14⁺ CD16⁺. Isto está em concordância

com estudos que mostram significativas alterações fenotípicas pós-traumáticas nos monócitos circulantes. Considerável expansão do subtipo CD14⁺ CD16⁺ tem sido relatada em pacientes com inflamação sistêmica e sepse^{53,54}. Este achado pode ter relevância adicional para lesão pulmonar aguda, desde que, sob condições inflamatórias, mais de 70% dos macrófagos alveolares são derivados dos monócitos circulantes CD14⁺ CD16⁺. Ainda no estudo de Rizoli e cols. foram observadas mudanças no padrão de redistribuição dos subtipos de monócitos. HSD aumentou a produção de IL-10 e IL-1ra pelo subtipo CD14⁺⁺ e ao mesmo tempo reduziu dramaticamente a produção intracelular de TNF- α pelo subtipo CD14⁺ CD16⁺. Isto foi consistente com outros estudos que demonstram que a menor população de monócitos CD14⁺ CD16⁺ tem uma capacidade aumentada de produzir TNF- α mas falha em produzir quantidade significativa de IL-10⁵⁵.

Muitas das pesquisas hoje em dia são focadas em modulação do sistema imune depois que ele tem sido ativado⁵⁶. Pode ser mais prudente investigar métodos que possam prevenir a ativação do sistema imune, com padronização de melhores técnicas de ressuscitação volêmica.

Baseado na literatura, é evidente que a hipertonicidade afeta muitas partes do sistema imune. Estudos em animais e experiências em culturas de células isoladas mostraram que a hipertonicidade suprime reversivelmente diversas funções dos neutrófilos e monócitos e ao mesmo tempo sobre-regula a função dos linfócitos T. Estes efeitos salutares foram observados mesmo em osmolalidades correspondentes àquelas vistas na prática clínica após ressuscitação com solução salina hipertônica. Em humanos já foi demonstrado propriedades antinflamatórias e imunológicas da solução salina hipertônica associada à dextran em vítimas de choque hemorrágico. Tem sido, portanto sugerido que a infusão deste tipo de solução pode melhorar as conseqüências prejudiciais decorrentes do trauma, choque, reperfusão e grande cirurgia na atividade imunológica, sendo, entretanto ainda necessário grandes estudos multicêntricos, randomizados e controlados para reforçar esta possibilidade.

Referências Bibliográficas

1. Moore FA, McKinley BA, Moore EE. The next generation in shock resuscitation. *Lancet*. 2004;363:1988–1996
2. Giannoudis PV. Current concepts of the inflammatory response after major trauma: an update. *Injury*. 2003;34:397–404
3. Maier RV. Pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome: endotoxin, inflammatory cells, and their mediators. *Cytokines and reactive oxygen species*. *Surg Infect*. 2000;1:197–205
4. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling: regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med*. 2000;28:N3–N12
5. Rhee P, Wang D, Ruff P, et al. Human neutrophil activation and increased adhesion by various resuscitation fluids. *Crit Care Med*. 2000;28:74–78
6. Junger WG, Coimbra R, Liu FC, et al. Hypertonic saline resuscitation: a tool to modulate immune function in trauma patients? *Shock*. 1997;8:235–241
7. Rotstein OD. Novel strategies for immunomodulation after trauma: revisiting hypertonic saline as a resuscitation strategy for hemorrhagic shock. *J Trauma*. 2000;49:580–583.
8. Kolsen-Petersen JA. Immune effect of hypertonic saline: fact or fiction? *Acta Anaesthesiol Scand*. 2004;48:667–678
9. Shukla A, Hashiguchi N, Chen Y, et al. Osmotic regulation of cell function and possible clinical applications. *Shock*. 2004;21:391–400
10. Rizoli SB, Kapus A, Fan J, et al. Immunomodulatory effects of hypertonic resuscitation on the development of lung inflammation following hemorrhagic shock. *J Immunol*. 1998;161:6288–6296



11. Angle N, Hoyt DB, Coimbra R, et al. Hypertonic saline resuscitation diminishes lung injury by suppressing neutrophil activation after hemorrhagic shock. *Shock*. 1998;9:164–170
12. Rizoli SB, Kapus A, Parodo J, et al. Hypertonic immunomodulation is reversible and accompanied by changes in CD11b expression. *J Surg Res*. 1999;83:130–135
13. Rizoli SB, Rotstein OD, Parodo J, et al. Hypertonic inhibition of exocytosis in neutrophils: central role for osmotic actin skeleton remodeling. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;279:C619–C633
14. Loomis WH, Namiki S, Hoyt DB, et al. Hypertonicity rescues T cells from suppression by trauma-induced anti-inflammatory mediators. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;281:C840–C848
15. Cuschieri J, Gourlay D, Garcia I, et al. Hypertonic preconditioning inhibits macrophage responsiveness to endotoxin. *J Immunol*. 2002;168:1389–1396
16. Gushchin V, Stegalkina S, Alam HB, et al. Cytokine expression profiling in human leukocytes after exposure to hypertonic and isotonic fluids. *J Trauma*. 2002;52:867–871
17. Oreopoulos GD, Bradwell S, Lu Z, et al. Synergistic induction of IL-10 by hypertonic saline solution and lipopolysaccharides in murine peritoneal macrophages. *Surgery*. 2001;130:157–165
18. Oreopoulos GD, Wu H, Szaszi K, et al. Hypertonic preconditioning prevents hepatocellular injury following ischemia/reperfusion in mice: a role for interleukin 10. *Hepatology*. 2004;40:211–220
19. Powers KA, Woo J, Khadaroo RG, et al. Hypertonic resuscitation of hemorrhagic shock upregulates the anti-inflammatory response by alveolar macrophages. *Surgery*. 2003;134:312–318
20. Rizoli SB, Rhind SG, Shek PN et al. The immunomodulatory effects of hypertonic saline resuscitation in patients sustaining traumatic hemorrhagic shock. *Ann Surg* 2006;243:47-57
21. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet* 2001; 357: 1777–89
22. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343: 108–17
23. Faist E, Schinkel C, Zimmer S. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. *World J Surg* 1996; 20: 454–9
24. Ziegler-Heitbrock HW. Definition of human blood monocytes. *J Leukoc Biol*. 2000;67:603–606.
25. Frankenberger M, Sternsdorf T, Pechumer H, et al. Differential cytokine expression in human blood monocyte subpopulations: a polymerase chain reaction analysis. *Blood*. 1996;87:373–377
26. Tonnesen E, Mickley H, Grunnet N. Natural killer cell activity during premedication, anaesthesia and surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1983; 27: 238–41
27. Blazar BA, Rodrick ML, O’Mahony JB et al. Suppression of natural killer-cell function in humans following thermal and traumatic injury. *J Clin Immunol* 1986;6: 26–36
28. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery. Implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2002;97:215-52
29. Nast-Kolb D, Waydhas C, Gippner-Steppert, et al: Indicators of the posttraumatic inflammatory response correlate with organ failure in patients with multiple injuries. *J Trauma* 1997; 42:446-455
30. Botha AJ, Moore FA, Moore EE, et al: Postinjury neutrophil priming and activation states: Therapeutic challenges. *Shock* 1995; 3:157-166
31. Springer TA: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell* 1994; 76:301-314
32. Mileski WJ, Winn RK, Vedder NB, et al: Inhibition of CD18-dependent neutrophil adherence reduces organ injury after hemorrhagic shock in primates. *Surgery* 1990; 108:206-212
33. McBride WT, Armstrong MA, McBride SJ. Immunomodulation: an important concept in modern anaesthesia. *Anaesthesia* 1996; 51: 465–73
34. Leppäniemi A, Soltero R, Burris D, et al: Fluid resuscitation in a model of uncontrolled hemorrhage: Too much too early, or too little too late? *J Surg Res* 1996; 63:413-418
35. Rhee P, Burris D, Pikoulis M, et al: Neutrophil activation by lactated Ringer’s resuscitation after hemorrhagic shock. *J Trauma* 1998; 44:313-319
36. Waxman K: What mediates tissue injury after shock. *New Horiz* 1996;4:151-153
37. Tanaka H, Ogura H, Yokota J, et al: Acceleration of superoxide production from leukocytes in trauma

- patients. *Ann Surg* 1991; 214:187-192
38. Donnelly TJ, Meade P, Jagels M, et al: Cytokine, complement, and endotoxin profiles associated with the development of the adult respiratory distress syndrome after severe injury. *Crit Care Med* 1994; 22:768-776
 39. Leppäniemi A, Soltero R, Burris D, et al: Fluid resuscitation in a model of uncontrolled hemorrhage: Too much too early, or too little too late? *J Surg Res* 1996; 63:413-418
 40. Angle N, Hoyt D, Cabello-Passini R, et al: Hypertonic saline resuscitation reduces neutrophil margination by suppressing neutrophil L selectin expression. *J Trauma* 1998; 45:7-13
 41. Velasco IT, Oliveira MA, Rocha-e-Silva JM, Lopes OU. Hypertonic NaCl and severe hemorrhagic shock. *American Journal of Physiology*, 1980; 239:H664-H673
 42. Rocha-e-Silva M, Figueiredo Filho LP. Small volume hypertonic resuscitation of circulatory shock. *Clinics*, 2005; 60:159-172
 43. Deitch EA, Shi HP, Feketeova E, et al. Hypertonic saline resuscitation limits neutrophil activation after trauma-hemorrhagic shock. *Shock* 2003; 19:328-33
 44. Murao Y, Hoyt DB, Loomis W et al. Does the timing of hypertonic saline resuscitation affect its potential to prevent lung damage? *Shock* 2000; 14:18-23
 45. Kolsen-Petersen JA, Nielsen JO, Bendtzen K, et al. Infusion of hypertonic saline (7.5% NaCl) causes minor immunological changes in normovolaemic women. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2004; 48:224–233
 46. Angle N, Cabello-Passini R, Hoyt DB, et al. Hypertonic saline infusion: can it regulate human neutrophil function? *Shock*. 2000; 14:503–508
 47. Coimbra R, Hoyt DB, Junger WG, et al. Hypertonic saline resuscitation decreases susceptibility to sepsis after hemorrhagic shock. *J Trauma*. 1997; 42:602–606
 48. Simma B, Burger R, Falk M, et al. A prospective, randomized, and controlled study of fluid management in children with severe head injury: lactated Ringer's solution versus hypertonic saline. *Crit Care Med*. 1998; 26:1265–1270
 49. Mattox KL, Maningas PA, Moore EE, et al. Prehospital hypertonic saline/dextran infusion for post-traumatic hypotension: the U.S.A. Multicenter Trial. *Ann Surg*. 1991; 213:482–491
 50. Martinez-Mier G, Toledo-Pereyra LH, Ward PA. Adhesion molecules and hemorrhagic shock. *J Trauma*. 2001; 51:408–415
 51. Maekawa K, Futami S, Nishida M, et al. Effects of trauma and sepsis on soluble L-selectin and cell surface expression of L-selectin and CD11b. *J Trauma*. 1998; 44:460–468
 52. Rainer TH, Ng MH, Lam NY, et al. Role of monocyte L-selectin in the development of post-traumatic organ failure. *Resuscitation*. 2001; 51:139–149
 53. McCarter MD, Mack VE, Daly JM, et al. Trauma-induced alterations in macrophage function. *Surgery*. 1998; 123:96–101
 54. Kampalath B, Cleveland RP, Chang CC, et al. Monocytes with altered phenotypes in posttrauma patients. *Arch Pathol Lab Med*. 2003; 127:1580–1585
 55. Ferguson KL, Taheri P, Rodriguez J, et al. Tumor necrosis factor activity increases in the early response to trauma. *Acad Emerg Med*. 1997; 4:1035–1040
 56. Hebert JC, O'Reilly M, Bednar MM: Modifying the host response to injury. *Horiz Trauma Surg* 1995; 75:335-349

