

**Paulo Roberto Lima Carreiro**

**Efeitos do fator XIII da coagulação e da desmopressina no  
choque hemorrágico não controlado em coelhos**

**Belo Horizonte  
2014**

**Paulo Roberto Lima Carreiro**

**Efeitos do fator XIII da coagulação e da desmopressina no choque hemorrágico não controlado em coelhos**

Tese Apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de doutor.

Orientador: Professor Doutor José Renan da Cunha Melo

Co-orientador: Professor Doutor Daniel Dias Ribeiro

**Belo Horizonte  
2014**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha de Catalogação a ser preparada pela  
Biblioteca ou Serviço de Documentação  
Faculdade de Medicina da Universidade da UFMG  
(Esta página deverá ser impressa no verso da folha de rosto.)

## ***Dedicatória / agradecimentos***

Ao amigo e professor Dr. João Baptista de Rezende Neto,

Aos Professores Dr. José Renan da Cunha Melo e Dr. Daniel Dias Ribeiro,

A todos os pesquisadores e funcionários do Laboratório “Prof. Lineu de Freire Maia”, especialmente ao Dr. Thiago Assis Lisboa e ao Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade,

Aos eternos mestres Dr. Carlos Rubens Maciel e Dr. Wilson Luiz Abrantes,

Aos colegas do Hospital João XXIII,

**Sem a convivência e o aprendizado proporcionado por vocês, este trabalho não seria possível.**

Aos meus familiares e amigos,

À Marina, Bruno e Júlia,

**Por tudo que para mim representam**

## Resumo

**INTRODUÇÃO:** A coagulopatia é evento primário no trauma e até 30% dos pacientes com sangramentos graves já chegam ao hospital com distúrbio de coagulação instalado. As estratégias atuais de tratamento do choque hemorrágico têm como objetivo, além do controle rápido do sangramento e da restauração da perfusão, a abordagem precoce da coagulopatia. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do fator XIII (FXIII) utilizado isoladamente ou em associação à hipotensão permissiva (HP) e à desmopressina (DDAVP) sobre a hemostasia. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi utilizado modelo de choque hemorrágico não controlado em coelhos e 54 animais randomizados em 9 grupos (n=6): Grupo 1 – Sham (GS), Grupo 2 – FXIII mais reposição volêmica normotensiva (FXIII / RVN), Grupo 3 – FXIII / HP, Grupo 4 – FXIII / DDAVP / RVN, Grupo 5 – FXIII / DDAVP / HP, Grupo 6 – RVN, Grupo 7 – FXIII sem choque, Grupo 8 – FXIII / DDAVP sem choque e Grupo 9 – HP. Amostras de sangue foram colhidas no início e ao final do experimento e submetidas à tromboelastometria (ROTEM®). As comparações entre os grupos foram feitas a partir do percentual da variação das medianas em relação aos valores iniciais e avaliadas pelo teste de Mann-Whitney. As diferenças consideradas significativas para  $P < 0,05$ . Também foi avaliado o sangramento abdominal. **RESULTADOS:** **CT (clot time):** A redução do CT indica início mais rápido da formação do coágulo. G8 apresentou resultado mais satisfatório G1, ou seja, apresentou uma variação mais negativa da mediana, o que representa maior redução do CT final (-46,9% X -6,7%,  $p=0,045$ ); G2 foi melhor que G6 (-48,6% X 1,9%,  $p=0,008$ ); G5 foi melhor que G6 (-43,9% X 1,9%,  $p=0,013$ ) e G3 foi melhor que G6 (-29,2% X 1,9%,  $p=0,045$ ). **Ângulo alfa:** Quanto maior o ângulo, maior a taxa de geração de fibrina. G3, G4, G5 e G9 foram melhores que G6 (12,3% X -8,5%,  $p=0,045$ ); (29,2% X -8,5%,  $p=0,031$ ); (20,3% X -8,5%,  $p=0,02$ ) e (13,2% X -8,5%,  $p=0,031$ ), respectivamente. **MAXVT (maximum velocity time):** variação percentual negativa indica tempo menor para que a coagulação atinja a velocidade máxima. Portanto, G8 foi melhor que G1 (-49,2% X -10%,  $p=0,02$ ); G2 foi melhor que G6 (-52,2% X -11,8%,  $p=0,013$ ) e G5 melhor que G6 (-49,6% X -11,8%,  $p=0,031$ ). **AUC (area under the curve):** quanto maior a AUC melhor a coagulação. G5 foi melhor que G2, pois apresentou uma variação menos negativa (-9,3% X -21,7%,  $p=0,045$ ). **MCF (maximum clot firmness):** sem diferenças entre os grupos. Os animais dos G5 e G9 sangraram menos quando comparados aos do G2 e G6. **CONCLUSÕES:** RVN tem efeitos negativos sobre a coagulação que podem ser minimizados pelo uso de FXIII e DDAVP. O efeito do FXIII é otimizado pela DDAVP. A HP reduz o sangramento, independente do uso de FXIII ou DDAVP.

Palavras-chave: choque hemorrágico, fator XIII, desmopressina, hipotensão permissiva

## *Abstract*

**INTRODUCTION:** Trauma associated coagulopathy is a primary event after injury. Approximately 30% of severely bleeding patients present to the hospital with some degree of coagulopathy. Hemorrhagic shock management mandates rapid hemorrhage control, adequate organ perfusion, and reversal of coagulopathy. In the present study, we set forth to investigate the hemostatic effect of supplementary factor XIII (FXIII) used alone and in conjunction with permissive hypotension (PH) and or Desmopressin (DDAVP), after uncontrolled bleeding. **METHODS:** Fifty four (n=54) New Zealand rabbits were randomized in 9 groups (n=6 per group) as follows: Group 1 (GS): Sham; Group 2: FXIII and normotensive fluid resuscitation (NFR); Group 3: FXIII and PH; Group 4: FXIII/DDAVP/NFR; Group 5: FXIII/DDAVP/PH; Group 6: NFR only; Group 7: FXIII w/o hemorrhage; Group 8: FXIII/DDAVP w/o hemorrhage; Group 9: PH only. Blood samples were obtained at baseline and at the end of the experiment for thromboelastometry (ROTEM®). Intra-abdominal blood loss was assessed at the end of the experiment. Data were analyzed as percent variation of medians compared to baseline values using the Mann-Whitney test. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ . **RESULTS: CT (clot time):** Decrease in CT translates into more rapid clotting. Animals in G8 clotted faster than G1 (Final CT -46.9% X -6.7%,  $p=0.045$ ); on the same token, G2 clotted faster than G6 (-48.6% X 1.9%,  $p=0.008$ ). In addition, G5 and G3 compared to G6 (-43.9% X 1.9%,  $p=0.013$ ) and (-29.2% X 1.9%,  $p=0.045$ ), respectively. **Alfa angle:** Increased alpha angle translates into more fibrin production. Groups 3, 4, 5 and 9 all increased alpha angle compared to G6: (12.3% X -8.5%,  $p=0.045$ ); (29.2% X -8.5%,  $p=0.031$ ); (20.3% X -8.5%,  $p=0.02$ ); (13.2% X -8.5%,  $p=0.031$ ), respectively. **MAXVT (Maximum velocity time):** Negative variation means less time to maximum velocity. G8 performed better than G1 (-49.2% X -10%,  $p=0.02$ ). Groups 2 and 5 performed better than G6; (-52.2% X -11.8%,  $p=0.013$ ); (-49.6% X -11.8%,  $p=0.031$ ), respectively. **AUC (Area under the curve):** Greater area correlates with better clotting. G5 was better than G2 with respect to the AUC (-9.3% X -21.7%,  $p=0.045$ ). Interestingly, there were no statistically significant differences with respect to the maximum clot firmness (MCF). Intra-abdominal blood loss was significantly less in groups 5 and 9 compared to groups 2 and 6. **CONCLUSION:** NFR fluid strategy impairs adequate coagulation compared to PH. That is partially reversed by supplementary FXIII and DDAVP. Furthermore, DDAVP potentiates the effect of FXIII. PH reduces bleeding even without FXIII or DDAVP administration.

Keywords: hemorrhagic shock, factor XIII, desmopressin, permissive hypotension, hemorrhagic shock resuscitation

## *Lista de abreviaturas*

Advanced Trauma Life Support (ATLS)	Inibidor de fibrinólise ativado pela trombina (TAFI)
Ângulo alfa (ALFA)	Inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1)
Area under the curve (AUC)	Intervalo de confiança (IC)
Artéria carótida comum direita (ACD)	Maximum clot firmness (MCF)
Ativador de plasminogênio tecidual (t-PA)	Maximum clot firmness time (MCFT)
Clot formation time (CFT)	Maximum lysis (ML)
Clot time (CT)	Maximum velocity (MAXV)
Coagulopatia traumática aguda (CTA)	Maximum velocity time (MAXVT)
Desmopressina (DDAVP)	Pressão arterial (PA)
Desvio padrão (DP)	Pressão arterial (PA)
Doença de von Willebrand (DVW)	Pressão arterial média (PAM)
Fator de von Willebrand (FVW)	Primeiro quartil (1°Q)
Fator VIII (FVIII)	Proteína C ativada (PCA)
Fator XIII (FXIII)	Razão normalizada internacional (RNI)
FXIII ativado (FXIII-a)	Reposição volêmica normotensiva (RVN)
Grupo 1 (G1)	Ringer lactato (RL)
Grupo 2 (G2)	Tempo de protombina (TP)
Grupo 3 (G3)	Tempo de tromboplastina parcial (PTT)
Grupo 4 (G4)	Tempo de tromboplastina parcial ativado (PTTA)
Grupo 5 (G5)	Terceiro quartil (3°Q)
Grupo 6 (G6)	Trauma crânio-encefálico (TCE)
Grupo 7 (G7)	Tromboelastografia (TEG)
Grupo 8 (G8)	Tromboelastometria (TEM)
Grupo 9 (G9)	Veia jugular interna direita (VJID)
Hipotensão permissiva (HP)	

## *Índices de ilustrações*

Figura 1 – Fases do experimento.....	25
Figura 2 – Parâmetros da tromboelastometria.....	29
Figura 3 – Variação percentual de CT em relação ao valor inicial.....	37
Figura 4 – Variação percentual do MCF em relação ao valor inicial.....	39
Figura 5 – Variação do ALFA em relação ao valor inicial.....	41
Figura 6 – Variação percentual do MAXVT em relação ao valor inicial.....	43
Figura 7 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial – AUC.....	45
Figura 8 – Registro gráfico da TEM (amostras finais G5 e G6).....	46
Figura 9 – Volume de sangramento abdominal por grupo.....	47
Figura 10 – Volume de líquido infundido por grupo.....	48
Figura 11 – Resposta hemodinâmica ao trauma-choque.....	49
Figura 12 – Microscopia eletrônica do coágulo (rede de fibrina). ....	50
Tabela 1 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do CT nos diferentes grupos.....	32
Tabela 2 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do MCF nos diferentes grupos.....	32
Tabela 3 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do ALFA nos diferentes grupos.....	33
Tabela 4 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do MAXVT nos diferentes grupos.....	33
Tabela 5 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do AUC nos diferentes grupos.....	34
Tabela 6 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica CT.....	36
Tabela 7 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica MCF.....	38
Tabela 8 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica ALFA.....	40
Tabela 9 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica MAXVT. ....	42
Tabela 10 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica AUC.....	44
Tabela 11 – Volume do sangramento abdominal por grupo (ml).....	47



# Sumário

Dedicatória / agradecimentos .....	2
Resumo .....	3
Abstract.....	4
Lista de abreviaturas .....	5
Índices de ilustrações.....	7
1 Introdução.....	10
2 Revisão da literatura .....	12
2.1 Coagulopatia no trauma .....	12
2.2 Hipotensão permissiva.....	13
2.3 Fator XIII.....	16
2.4 Desmopressina .....	19
2.5 Tromboelastografia / tromboelastometria.....	20
3 Material e métodos .....	23
3.1 Animais.....	23
3.1.1 Distribuição dos animais em grupos.....	23
3.2 Anestesia.....	25
3.3 Procedimento cirúrgico.....	25
3.3.1 Preparação das áreas a serem operadas .....	25
3.3.2 Traqueostomia, acessos venosos, exames basais e monitorização.....	26
3.3.3 Procedimento abdominal e lesão da aorta .....	26
3.3.4 Fase de choque hemorrágico e reposição volêmica.....	27
3.3.5 Procedimentos abdominais após a reposição volêmica.....	27
3.4 Tromboelastometria .....	27
3.5 Análises.....	30
4 Resultados.....	32
4.1 Análise descritiva.....	32
4.2 Análise comparativa .....	35
4.2.1 Clot time – CT .....	35
4.2.2 Maximum clot firmness – MCF .....	38
4.2.3 Ângulo Alfa - ALFA .....	39
4.2.4 Maximum velocity time – MAXVT.....	42
4.2.5 Area under the curve – AUC .....	44
4.3 Sangramento abdominal .....	47
4.4 Volume infundido .....	48
4.5 Pressão arterial média .....	49

4.6	Mortalidade .....	49
4.7	Microscopia eletrônica.....	50
5	Discussão .....	51
5.1	Modelo animal .....	51
5.2	Análise descritiva.....	53
5.2.1	Tempo de coagulação – <i>clot time</i> (CT) .....	53
5.2.2	Força máxima do coágulo – <i>maximum clot firmness</i> (MCF): .....	53
5.2.3	Ângulo alfa – (ALFA) .....	53
5.2.4	Tempo para a velocidade máxima – <i>maximum velocity time</i> (MAXVT).....	54
5.2.5	Área sob a curva – <i>area under the curve</i> (AUC).....	54
5.3	Análise comparativa .....	55
5.4	Sangramento abdominal .....	59
6	Conclusões.....	61
	Referências .....	62
	Apêndice A.....	71
	Anexo A.....	72
	Anexo B: Ata da defesa .....	73
	Anexo C: Folha de aprovação .....	74

## ***1 Introdução***

O trauma é a principal causa de morte na população até os 40 anos e a doença com maior impacto na redução da expectativa de vida da população mundial. O choque hemorrágico é responsável por 30 a 40% das mortes por trauma, consistindo a causa mais comum de mortes potencialmente evitáveis. Aproximadamente 50% dos pacientes que morrem durante as primeiras 24 horas após traumatismos têm como causa de morte a hemorragia (1,2).

O controle rápido do sangramento é a medida mais eficaz na abordagem do paciente com choque hemorrágico. Protocolos de tratamento da hemorragia pós-trauma enfatizam a rápida restauração da perfusão dos tecidos pela infusão de grandes volumes de cristaloides, tais como solução salina a 0,9% ou Ringer Lactato (3). Essa conduta eleva a pressão arterial (PA) e, caso seja implementada antes do controle cirúrgico da hemorragia, provoca a ruptura dos coágulos formados nos vasos lesados, podendo resultar em ressangramento (4). Demais mecanismos que poderiam provocar aumento do sangramento pela infusão de cristaloides são: diluição dos fatores da coagulação, aumento da pressão arterial, acidose e hipotermia (5,6).

A coagulopatia é evento primário no trauma e até 30% dos pacientes com sangramentos graves já chegam ao hospital com distúrbio de coagulação instalado, antes de receberem grandes volumes de líquidos ou estarem hipotérmicos (7). Estas alterações da hemostasia estariam relacionadas, dentre outros fatores, à resposta inflamatória desencadeada pelo trauma e pelo choque. A lesão e hipoperfusão teciduais, além de interferirem nos processos da coagulação, favorecem a fibrinólise e o consumo de fibrinogênio, através da ativação da proteína C (8,9).

As estratégias atuais de tratamento do choque hemorrágico têm como objetivo, além do controle rápido do sangramento e da restauração da perfusão, a abordagem precoce da coagulopatia (10,11).

Medidas capazes de reduzir a mortalidade provocada pelo choque hemorrágico e pela coagulopatia pós-trauma são atualmente foco de vários estudos clínicos e experimentais (5). A hipotensão permissiva e o uso precoce de hemocomponentes (plasma fresco congelado, hemácias e plaquetas) constituem condutas sob investigação, visando evitar os efeitos deletérios da administração excessiva de cristaloides e iniciar o tratamento precoce da coagulopatia relacionada ao trauma (12–15). Algumas drogas que interferem na coagulação também estão sendo estudadas, dentre as quais o ácido tranexâmico, a desmopressina (DDAVP) e alguns fatores da coagulação.

A DDAVP promove a liberação de fator VIII (FVIII) e do fator de von Willebrand (FvW), favorecendo a redução do sangramento (16).

O fator XIII (FXIII) exerce importante função no processo de hemostasia catalisando as ligações cruzadas das redes de fibrina, das membranas plaquetárias e das matrizes proteicas nos coágulos, além de possuir atividade anti-fibrinolítica (17).

Estudo experimental demonstrou que a hipotensão permissiva (HP) reduz o sangramento de animais submetidos a choque hemorrágico não controlado, além de induzir a formação de coágulos mais resistentes do que aqueles formados após reposição volêmica normotensiva (RVN). Achados semelhantes foram obtidos com a infusão de DDAVP uma hora antes da indução da hemorragia (18).

Seguindo essa linha de pesquisa, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do FXIII utilizado isoladamente ou em associação à hipotensão permissiva e à DDAVP sobre a hemostasia, em modelo de choque hemorrágico não controlado em coelhos.

## ***2 Revisão da literatura***

### **2.1 Coagulopatia no trauma**

A coagulopatia é uma complicação grave que incide sobre pacientes com choque hemorrágico e, as suas causas, tradicionalmente, são relacionadas à hemodiluição (coagulopatia dilucional), à hipotermia e à acidose. O aumento do consumo dos fatores da coagulação e das plaquetas também está associado à coagulopatia do trauma. A teoria é de que a coagulopatia configuraria complicação secundária ao sangramento persistente e à infusão excessiva de cristaloídes, e que ocorre em fase mais tardia da evolução dos pacientes. Desta forma, os protocolos de tratamento se baseiam no uso de hemocomponentes (plasma fresco congelado, plaquetas e crioprecipitado) após o diagnóstico laboratorial do distúrbio da coagulação (9,19).

Apesar de estes fatores estarem associados às alterações no processo da coagulação, estudos mais recentes demonstram que alguns pacientes já estão com coagulopatia instalada, quando são admitidos na sala de emergência. Estudo retrospectivo envolvendo 1088 pacientes traumatizados evidenciou que cerca de 25% deles apresentavam coagulopatia na admissão. Estes pacientes tiveram mortalidade significativamente maior quando comparados àqueles com os parâmetros de coagulação normais (46% x 10,9%,  $p < 0,001$ ) (7). A coagulopatia ocorreu com maior frequência em pacientes com traumas mais graves, sem se constatar relação direta com o volume de líquidos infundidos. Não foi estabelecida relação de causa e efeito neste trabalho, mas foi levantada a hipótese da existência de correlação entre a resposta inflamatória relacionada ao trauma e as alterações da hemostasia observadas. Denominou-se este quadro de coagulopatia traumática aguda (CTA).

Outros estudos confirmaram a presença deste quadro precoce de coagulopatia, numa relação direta entre a ocorrência da CTA e aumento da mortalidade. O diagnóstico e tratamento precoces estão associados à redução destas mortes (20,21).

Embora vários fatores estejam relacionados à etiologia da CTA, a lesão tecidual associada à hipoperfusão, parece ser fundamental para desencadear as alterações que resultarão na diminuição da atividade dos fatores da coagulação e hiperfibrinólise. Estas alterações podem ocorrer mesmo na ausência de infusão excessiva de líquidos ou de hipotermia, sugerindo pro-

cesso endógeno (8). Os parâmetros da coagulação no atendimento pré-hospitalar de 45 pacientes indicaram que 56% deles apresentavam coagulopatia na cena do acidente, sem nenhuma influência das medidas de reanimação (22).

A ativação da via da proteína C parece exercer papel importante na CTA e permite estabelecer ligação entre a coagulação e a resposta inflamatória ao trauma (9). Estudo prospectivo com 203 vítimas de traumas demonstrou relação direta entre choque e a ativação da proteína C. Os pacientes com lesões mais graves e choque tiveram os maiores níveis plasmáticos de proteína C ativada (PCa), resultando em inibição dos fatores da coagulação (Va e VIIIa) e ativação da fibrinólise (23). Resultados semelhantes foram obtidos em estudo prospectivo e multicêntrico, no qual pacientes com traumas mais graves e déficit de bases maior que -6, apresentaram níveis mais elevados de PCa e prolongamento do tempo de protombina (TP) bem como do tempo de tromboplastina parcial (PTT). Além da redução da atividade dos fatores Va e VIIIa, reduziu-se ainda o nível plasmático de fibrinogênio (24). Outro estudo prospectivo com 110 pacientes traumatizados evidenciou que 20% apresentaram redução crítica da atividade de pelo menos um dos fatores da coagulação, especialmente do fator V. Estas alterações ocorreram precocemente e sem relação com volume de líquidos administrados, sugerindo que a deficiência dos fatores da coagulação também tem papel importante na fisiopatologia da CTA(25). Níveis elevados de PCa provocam a redução dos níveis do inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1) o que irá resultar em aumento da ativação da fibrinólise (8). O papel da hiperfibrinólise na CTA é importante, pois nesta situação o paciente pode não apresentar deficiência da atividade dos fatores da coagulação, com implicações diretas no tratamento (26).

Apesar dos avanços científicos, a fisiopatologia da CTA precisa ser melhor esclarecida e muitos estudos ainda se fazem necessários. Vários fatores desempenham papel relevante no desenvolvimento da CTA: lesão tecidual, choque, resposta inflamatória, diluição e depleção dos fatores da coagulação, hipotermia, acidose e fibrinólise. O entendimento do papel destes fatores na instalação e manutenção da CTA é a chave para o desenvolvimento de protocolos de tratamento mais eficazes, incluindo medidas com o objetivo de reestabelecer ou melhorar a coagulação dos pacientes com choque hemorrágico (10–12).

## **2.2 Hipotensão permissiva**

Desde a década de 60, a reanimação dos pacientes vítimas de trauma em choque baseia-se em reposição volêmica agressiva com cristaloides (27). Esta conduta foi impulsionada pela

experiência adquirida na Guerra do Vietnã e reforçada na década de 80 pelo conceito de reanimação supranormal (28). Esta estratégia de reanimação baseada na infusão excessiva de cristaloídes também foi preconizada pelo protocolo do ATLS® (Advanced Trauma Life Support) em suas edições iniciais (3).

Os efeitos deletérios de uma reposição volêmica agressiva são bem conhecidos e várias complicações descritas: síndrome de angústia respiratória do adulto, síndrome do compartimento abdominal, edema cerebral, disfunção cardíaca, entre outras (29). A infusão excessiva de líquidos pode resultar, também, em aumento do sangramento pelos seguintes mecanismos: aumento da pressão arterial (PA), diluição dos fatores de coagulação, redução da viscosidade do sangue, instalação ou agravamento de hipotermia e deslocamento de coágulos aderidos no sítio da lesão. Todos estes fatores interferem negativamente na coagulação e estão associados à fisiopatologia da coagulopatia induzida pelo trauma (19,30).

As estratégias de reanimação que limitam a infusão de líquidos em pacientes com hemorragia não controlada, visam oferecer volume suficiente para manter perfusão tecidual adequada sem provocar aumento do sangramento. Entretanto, os níveis de pressão arterial adequados para atingir estes objetivos ainda não estão definidos (31).

A reposição volêmica iniciada somente após o controle da hemorragia em pacientes com sangramento ativo foi preconizada em 1918. A justificativa para essa conduta era baseada no receio de que infusão excessiva de líquidos poderia resultar em aumento do sangramento (32). Essa hipótese foi confirmada por meio de estudos em modelos animais (cães, suínos, ovinos) que evidenciaram aumento da hemorragia no tratamento de choque hemorrágico por reposição volêmica agressiva. A infusão de volume de forma mais criteriosa reduzia a mortalidade (33-37).

Estudo envolvendo 598 pacientes vítimas de trauma penetrante no tronco e hipotensão arterial ( $PA < 90$  mmHg) destacou que os pacientes que receberam reposição volêmica normotensiva desde o pré-hospitalar tiveram sobrevida pior (62% x 70%,  $p < 0,04$ ), maior taxa de complicações e maior permanência hospitalar do que o grupo no qual a reposição volêmica somente foi iniciada após o controle cirúrgico do sangramento. Apesar de a estratégia de reanimação utilizada (reanimação volêmica retardada) ser diferente do conceito de hipotensão permissiva, este estudo comprovou que o conceito de reanimação volêmica agressiva vigente, parece não ser fundamental no tratamento do choque hemorrágico (38).

Outro estudo clínico prospectivo, utilizando 55 pacientes com reanimação normotensiva (PAS > 110 mmHg) e 55 pacientes reanimados com a hipotensão permissiva (PAS < 70 mmHg) não encontrou diferença na mortalidade entre os grupos. Os portadores de TCE foram excluídos (39).

Estudo multicêntrico prospectivo envolvendo 1754 pacientes demonstrou que a quantidade de líquidos infundida nas primeiras 24 horas estava diretamente relacionada à incidência de complicações, principalmente, com a síndrome de angústia respiratória do adulto e síndrome de compartimento abdominal. A reanimação volêmica agressiva também estava associada à permanência hospitalar mais prolongada e internação em unidade de terapia intensiva. Não se detectou relação entre volume de líquido administrado e mortalidade neste estudo (40).

Estudo prospectivo e randomizado avaliou os efeitos da hipotensão permissiva e reanimação normotensiva no tratamento de vítimas de traumatismos penetrantes e contusos. Os pacientes do grupo com hipotensão permissiva (pressão arterial média = 50 mmHg) tiveram menos mortalidade no pós-operatório imediato, menor tendência a desenvolver coagulopatia e receberam quantidade menor de hemocomponentes. Trata-se de análise preliminar com amostra de 90 pacientes e predomínio de pacientes com traumas contusos e índice de gravidade (ISS – *Injury Severity Score*) maior no grupo com reanimação normotensiva (41).

É descrita uma limitação relacionada à abordagem por hipotensão permissiva em pacientes com trauma crânio-encefálico (TCE). Nestes pacientes os níveis pressóricos mais baixos poderiam reduzir a pressão de perfusão cerebral e conseqüentemente contribuir para a instalação ou agravamento da lesão cerebral secundária (42). A manutenção da pressão de perfusão cerebral acima de 70 mmHg reduziu a mortalidade em pacientes vítimas de TCE (43).

Uma avaliação da perfusão tecidual com microesferas em modelo de hemorragia não controlada em ratos demonstrou que a hipotensão permissiva reduziu o sangramento intra-abdominal sem comprometimento da perfusão tecidual, incluindo o cérebro (44).

Existe tendência na literatura a restringir o volume de líquidos infundidos na reanimação dos pacientes com hemorragia não controlada. O protocolo do ATLS® em sua última edição recomenda a redução da dose inicial de cristaloides de 2000 ml para 1000 ml e sugere reposição de líquidos menos agressiva do que a recomendada nas edições anteriores (45).



## 2.3 Fator XIII

O FXIII, conhecido também como fator de Laki-Lorand, foi denominado inicialmente fator de estabilização da fibrina, baseado na primeira descrição da sua função (46). Em 1960 foi relatado o primeiro caso de deficiência congênita de FXIII. O paciente apresentava distúrbios graves da coagulação; entretanto, só se observaram as alterações laboratoriais por meio da tromboelastometria e do teste de solubilidade do coágulo, métodos ainda utilizados nos dias de hoje para avaliar o FXIII (47).

A estrutura geral do FXIII é tetraédrica (FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>). Sua forma inativa está presente no plasma (FXIII-A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>) e após ação da trombina, na presença de cálcio e fibrina, sofre dissociação das sub-unidades B, provocando alterações conformacionais e ativação. A sub-unidade B<sub>2</sub> desempenha funções de estabilização e transporte da sub-unidade hidrofóbica A<sub>2</sub> no ambiente aquoso do plasma, além de reduzir a degradação e a inativação do FXIII-A<sub>2</sub> por proteases, prolongando sua presença na circulação (48). A sub-unidade B<sub>2</sub> é, também, responsável pela apresentação do FXIII ativado ao polímero de fibrina, iniciando o processo de ligação cruzada. A produção da sub-unidade B<sub>2</sub> ocorre principalmente no fígado, ao passo que, a sub-unidade A<sub>2</sub> é produzida pelos megacariócitos e monócitos. Aproximadamente 50% de todo o FXIII do sangue encontram-se nas plaquetas (49,50).

O FXIII plasmático ativado (FXIII-a) catalisa a formação de ligações cruzadas na molécula de fibrina e em outras proteínas alvo que possuem resíduos de glutamina e lisina. Também forma ligações covalentes com  $\alpha$ 2-anti-plasmina e com o inibidor de fibrinólise ativado pela trombina (TAFI), levando à produção de coágulos mais estáveis e mais resistentes à degradação pela plasmina. Ainda no plasma e no espaço subendotelial, o FXIII é responsável por ligações cruzadas com o fator de von Willebrand, vitronectina, fibronectina, fator V da coagulação, PAI-1, trombospondina e colágeno (48).

No espaço intracelular, o FXIII existe como homodímero (FXIII-A<sub>2</sub>) imunologicamente idêntico ao FXIII-A<sub>2</sub> presente no plasma, mas diferentemente do FXIII plasmático, sua ativação é independente da trombina. Há mudança conformacional, não proteolítica, por aumento do cálcio intracelular na presença dos substratos alvo (17).

No citosol das plaquetas e das células do endotélio vascular, o FXIII desempenha importante papel nas funções hemostáticas e de cicatrização. Atuando sobre os substratos miosina,

actina, vinculina e filamina, o FXIII induz remodelação no citoesqueleto das plaquetas contribuindo para adesão, agregação e contratilidade. No citosol dos monócitos/macrófagos o FXIII-A2 participa da fagocitose mediada por receptores do tipo Fcγ e complemento. Nos leucócitos o FXIII participa do processo de recrutamento, fagocitose e atividade das proteases (17).

O FXIII constitui uma proteína com múltiplas funções intra e extra-celulares. Além da estabilização das ligações de fibrina no coágulo e da sua atividade anti-fibrinolítica, o FXIII tem papel importante na manutenção da gravidez, na cicatrização de feridas e na angiogênese. Foi demonstrado, ainda, que o FXIII atua na permeabilidade vascular, no desenvolvimento de ossos e cartilagens além de possuir efeitos cardioprotetores. No espaço intra-celular o FXIII tem atividade enzimática no citosol das plaquetas, macrófagos e células dendríticas (17,51).

A deficiência congênita do FXIII provoca sangramento grave, prejudica a cicatrização das feridas e aumenta a incidência de abortos espontâneos. A principal causa de morbimortalidade nos casos de deficiência congênita é a hemorragia intracraniana, podendo ocorrer em até 25 a 30% dos casos, incidência maior do que na hemofilia A ou B. Quando há deficiência do FXIII, os coágulos formados degradam-se em aproximadamente 24 a 48h devido às fracas ligações cruzadas da fibrina, podendo ocorrer ressangramento no pós-operatório. Quadros clínicos graves podem ser observados quando a concentração do FXIII é inferior a 1% (49,52).

A deficiência adquirida do FXIII é bem mais comum do que a congênita e ocorre mais frequentemente em pessoas acima dos 50 anos. Essa deficiência atribui-se mais à formação de auto-anticorpo, o qual se liga ao FXIII no plasma e interfere em sua função normal (52). A deficiência adquirida do FXIII pode cursar com hemorragia grave, hematomas espontâneos ou pós-traumáticos, ou ainda, complicar a situação clínica subjacente quais sejam: lúpus eritematoso sistêmico, leucemias, doença hepática grave, coagulação intravascular disseminada e doenças inflamatórias intestinais. Indução de inibidores do FXIII pode ocorrer em associação ao uso de substâncias como penicilina, fenitoína e isoniazida (53).

Não é fácil obter o diagnóstico das deficiências do FXIII, uma vez que os testes atuais não são sensíveis o suficiente para detectar níveis de atividade menores que 5%. Como níveis plasmáticos entre 5 e 30% parecem suficientes para prevenir hemorragia espontânea, torna-se crucial o desenvolvimento de testes com sensibilidade para detectar os níveis baixos desse fator (52). Nas deficiências adquiridas, os níveis plasmáticos do FXIII variam de 50 a 75% do normal e, nas formas congênitas graves, apresentam-se abaixo de 1%. Testes comumente utilizados na avaliação da coagulação, como por exemplo, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina

parcial ativado, nível de fibrinogênio, tempo de sangria, e a contagem de plaquetas são normais em pacientes com deficiência de FXIII. Isto ocorre porque as ligações cruzadas com a fibrina ocorrem após a formação inicial do coágulo (54,55). Para o diagnóstico qualitativo da deficiência utiliza-se o teste da lise do coágulo pela ureia; entretanto, este teste somente é sensível em níveis de atividade do FXIII próximos de zero e estará normal caso a atividade do FXIII atinja valores maiores que 1% (52). Existem testes específicos para a dosagem quantitativa da atividade FXIII no plasma que utilizam técnicas imunológicas (ELISA) ou radioisótopos (54).

A tromboelastometria (TEM) também tem sido utilizada para avaliar a atividade do Fator XIII em situações clínicas e experimentais. Estudo *in vitro* que utilizou amostras de sangue total, demonstrou que a inibição da atividade do FXIII com anticorpo policlonal resultou em agravamento dos parâmetros da coagulação avaliados pela TEM. Foi observado aumento do tempo para início da coagulação, redução da força do coágulo e aumento da atividade fibrinolítica (56). A adição de concentrado de FXIII a amostras de plasma com deficiência deste fator induz melhora dos parâmetros da coagulação avaliados pela TEM (57). Estudo semelhante com amostras de sangue de 90 pacientes críticos e suplementação *in vitro* de FXIII, detectou melhora na força máxima e na estabilidade do coágulo após adição de doses supra-fisiológicas de FXIII (58). A cinética da coagulação avaliada por meio da TEM demonstrou que a adição de um anticorpo anti-FXIII ao plasma resultou em redução da força do coágulo. Quando as amostras de plasma com o anticorpo anti-FXIII foram comparadas a amostras de pacientes com deficiência de FXIII, não ocorreram diferenças no padrão da coagulação (59).

O tratamento das deficiências de FXIII inclui a transfusão de plasma fresco congelado e crioprecipitado. Atualmente, além dessas opções, existe o concentrado pasteurizado de FXIII derivado do plasma (Fibrogamin P®, CSL Behring, Marburg, Alemanha) nas doses de 10 a 35 U/kg. Tratamento realizado com o Fibrogamin P® resulta em normalização do padrão de coagulação avaliado pela tromboelastometria. Como a vida média do FXIII é longa (5 a 11 dias) os esquemas de profilaxia com qualquer das modalidades descritas são os seguintes: plasma fresco congelado 10 ml/kg a cada 4 a 6 semanas, crioprecipitado uma bolsa para cada 10-20kg a cada 3 a 4 semanas, Fibrogamin P® 10 a 35 U/kg a cada 4 ou 6 semanas (52).

O prognóstico da deficiência do FXIII é razoavelmente bom. Apesar do risco aumentado de hemorragia apresentado pelos pacientes por toda a vida, a profilaxia com plasma, crioprecipitado ou Fibrogamin® apresenta boa resposta.

## 2.4 Desmopressina

A 1-deamino-8- D-arginina-vasopressina (Desmopressina) é análogo sintético do hormônio anti-diurético (Vasopressina). Por alterações moleculares, seu efeito é mínimo nos receptores V1 presentes na musculatura lisa, com ação principalmente nos receptores V2, presentes no sistema excretor renal e responsáveis pelo efeito anti-diurético. Por este motivo, a DDAVP tem ação anti-diurética e não provoca a contração dos vasos e músculos lisos, resultando em ausência de efeitos cardiovasculares observados com o uso de Vasopressina (60,61).

A DDAVP aumenta os níveis plasmáticos do FvW, do FVIII e do ativador de plasminogênio tecidual (t-PA). O aumento dos níveis de t-PA não resulta em uma atividade pró-fibrinolítica relacionada à DDAVP, devido ao aumento do t-PA ser transitório e da ação da  $\alpha$ 2-antiplasmina (16). A ação da DDAVP sobre o FvW e t-PA parece ocorrer diretamente sobre o endotélio, resultando na liberação destas substâncias, ao passo que os mecanismos de ação da DDAVP sobre o FVIII plasmático ainda não se acham totalmente esclarecidos. O FVIII circula ligado ao FvW e tem uma meia vida plasmática muito curta. O aumento do FvW leva a aumento da concentração de FVIII circulante. A DDAVP não tem ação sobre a agregação plaquetária, mas aumenta a adesão das plaquetas no endotélio lesado (16,62).

A DDAVP foi usado clinicamente pela primeira vez em 1977, com o objetivo de reduzir a necessidade de hemocomponentes em pacientes com Doença de von Willebrand (DvW) ou em portadores de hemofilia A submetidos a tratamentos cirúrgicos ou odontológicos. Desde então a DDAVP tem sido utilizado em várias situações clínicas, incluindo: DvW, formas leves de hemofilia A, distúrbios plaquetários adquiridos ou congênitos, sangramentos relacionados a uremia, cirrose hepática e profilaxia ou tratamento em situações com risco mais grave de sangramento (60,63-65).

Estudo controlado e randomizado atestou que o uso profilático de DDAVP em cirurgias cardíacas reduziu o risco de sangramento peri-operatório e no pós-operatório imediato em cerca de 40% (66). Esses resultados não foram confirmados em estudos subsequentes.

Os resultados dos estudos que avaliam os benefícios do uso profilático da DDAVP para reduzir o sangramento em cirurgias são controversos, sendo que a maioria dos trabalhos não demonstra o benefício de seu uso em situações diversas, tais como: cirurgias ortopédicas, plásticas, vasculares e tratamento de queimados. Pacientes operados em uso de aspirina, portadores

da DvW e com redução da amplitude do coágulo (menor que 50 mm) identificada pela TEM, acusaram redução do sangramento operatório após o uso da DDAVP (64,67).

Uma revisão sistemática da literatura, abrangendo 17 estudos duplo-cegos e com grupo controle envolvendo 1171 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca concluiu que os pacientes que receberam DDAVP apresentaram menos sangramento pós-operatório em relação aos pacientes que receberam placebo, porém a DDAVP não foi capaz de reduzir a necessidade de hemotransfusões (68).

Um estudo com 28 trabalhos e 2488 pacientes (não vítimas de trauma) avaliou o uso profilático da DDAVP com objetivo de reduzir o sangramento e a necessidade de hemotransfusões em cirurgias, tendo chegado a conclusão que a DDAVP reduziu a perda sanguínea em cerca de 80ml/paciente e a quantidade de hemocomponentes em 0,3 unidades/paciente, sem interferir na proporção de pacientes que necessitaram de hemotransfusão (69).

Atualmente as indicações para o uso da DDAVP se limitam aos pacientes portadores de hemofilia A leve, DvW ou com disfunção plaquetária (uso de anti-agregante plaquetário ou plaquetopatias congênitas). A dose recomendada é de 0,3µg/kg por via endovenosa (63,70).

Há poucos trabalhos na literatura sobre o uso de DDAVP no trauma, sendo os estudos disponíveis experimentais. Em modelo de choque não controlado em ratos, o uso de drogas pró-coagulantes (aprotinina, ácido aminocapróico e ácido tranexâmico), de forma isolada ou associadas à DDAVP em diferentes esquemas, não evidenciou nenhum efeito destas drogas no volume do sangramento, nem sequer no tempo de mortalidade dos animais (71).

Estudo experimental utilizando modelo de choque não controlado em coelhos demonstrou que a hipotensão permissiva reduziu a perda sanguínea e resultou em coágulos com maior agregação fibrino-plaquetária à microscopia eletrônica. A infusão de DDAVP antes do choque resultou em menor sangramento intra-abdominal e em tempo menor para a formação do coágulo na TEM. Estes resultados foram observados somente nos animais que receberam reposição volêmica normotensiva (18).

## **2.5 Tromboelastografia / tromboelastometria**

O termo tromboelastografia (TEG) é usado para descrever o registro gráfico resultante da medida das variações da viscoelasticidade do sangue durante o processo de polimerização da fibrina descrito por Hartert em 1948 (72).

A aplicabilidade deste exame na prática clínica ficou restrita por cerca de sessenta anos por limitações tecnológicas. Os avanços na padronização da TEG, aliados ao desenvolvimento de programas de computação e digitalização e da possibilidade da realização do exame com aparelhos portáteis, tornaram o método cada vez mais difundido (73).

Em 1996 o termo tromboelastografia (TEG) tornou-se marca registrada da Haemoscope Corporation (Estados Unidos) e desde então na literatura este termo é empregado para a descrição de exames realizados por aparelhos da Haemoscope. Posteriormente, a empresa Pentapharm GmbH (Alemanha) passou a utilizar o termo tromboelastometria para se referir ao processo de análise de seu aparelho chamado ROTEM®, o qual utiliza os mesmos princípios. Portanto, os termos tromboelastometria e tromboelastografia referem-se a processos de análise semelhantes com utilização de equipamentos distintos (74). O aparelho utilizado neste estudo foi o ROTEM®, e por este motivo, será utilizado o termo tromboelastometria. Cada parâmetro da TEM representa fase distinta da coagulação de forma que na prática clínica o tratamento possa ser direcionado para o distúrbio ou deficiência específica (75). Por exemplo, tempo de coagulação (CT - *clot time*) aumentado talvez indique deficiência de fatores de coagulação que podem ser repostos mediante a utilização de plasma. Outra causa de aumento do CT é o uso de heparina que pode ser tratada com sulfato de protamina. Redução do ângulo  $\alpha$  pode indicar redução do fibrinogênio e a necessidade de uso de crioprecipitado. Redução da força do coágulo (MCF - *maximum clot firmness*) pode ser resultante de disfunção plaquetária, indicando a transfusão de plaquetas ou até mesmo o uso de DDAVP. Nas situações em que a TEM indica anormalidades relacionadas às plaquetas ou ao fibrinogênio as causas podem ser qualitativas ou quantitativas; infere-se, pois, que a dosagem das plaquetas ou da concentração de fibrinogênio é importante nestes casos (73,74,76,77).

A principal vantagem da TEM é que ela fornece informações dinâmicas de todo o processo de coagulação, desde a iniciação do coágulo até a fibrinólise, permitindo identificar em qual fase da coagulação acha-se o problema. Atualmente é bem conhecida a importância da hiperfibrinólise como causa de sangramento persistente em pacientes traumatizados. Nesses casos, o tratamento será feito com drogas antifibrinolíticas, evitando-se o uso desnecessário de plasma (78).

A associação entre os resultados da TEM e os testes normalmente utilizados no coagulograma (PTT<sub>a</sub>: tempo de tromboplastina parcial ativado, TP: tempo de protrombina e RNI: razão normalizada internacional) é fraca. Isto se deve a vários fatores, mas sobretudo, pelo fato

de os testes do coagulograma serem realizados apenas com o plasma, portanto, não refletindo todo o processo de coagulação ante a presença das células no sangue total “*in vivo*”(30,77). A TEM oferece visão global do processo de coagulação, incluindo a dinâmica da interação entre as plaquetas e os fatores de coagulação, enquanto a avaliação do coagulograma é fragmentada e se correlaciona apenas com a inicialização do coágulo, não se avaliando a cinética nem a força do coágulo formado. Além disto, os resultados da TEM podem ser obtidos mais rapidamente que os testes de laboratório, eventualmente à beira do leito do paciente (19,79–81).

O reconhecimento da coagulopatia como evento primário e que provoca aumento da mortalidade em pacientes traumatizados, justifica a preocupação com a abordagem precoce desta complicação (7,19,20). Por isso, a TEM vem sendo usada por vários grupos tanto para o diagnóstico quanto para orientar o tratamento dos distúrbios da coagulação. Vários estudos em pacientes traumatizados apontaram que os resultados da TEM têm correlação com os testes de coagulação normalmente utilizados, tendo sido capazes de predizer a necessidade de hemotransfusões e de correlacionar alterações de alguns parâmetros com o aumento da mortalidade (80-85).

### 3 *Material e métodos*

#### 3.1 **Animais**

Para o experimento foram utilizados 54 coelhos machos (*O. cuniculus*) com peso mínimo de 2,0 kg.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, inseridos no projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG) em 14/12/2010 conforme protocolo de nº 261/2010.

Os animais foram mantidos no biotério central da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) alojados individualmente em gaiolas de 80 x 50 x 40 cm e alimentados com ração (Purina®) e água *ad libitum* até o momento do experimento.

##### 3.1.1 Distribuição dos animais em grupos

Utilizou-se uma tabela de números aleatórios para distribuir os animais em 9 grupos com seis animais em cada.

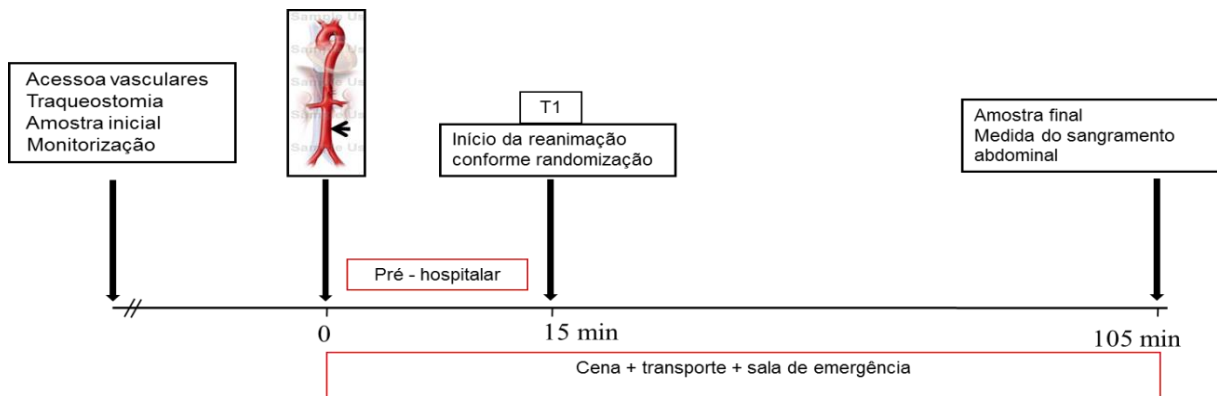
- Grupo 1 (G1) – Sham: submetidos à anestesia, traqueostomia, canulação vascular, monitorização, laparotomia, dissecação da aorta infra-renal sem a instalação do sangramento pela lesão aórtica e laparorráfia.
- Grupo 2 (G2) – FXIII mais reposição volêmica normotensiva (FXIII / RVN): submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o grupo 1, acrescido de choque hemorrágico por meio de lesão padronizada na aorta infra-renal, imediatamente seguida de laparorráfia. Quinze minutos após o início do choque iniciou-se a reposição volêmica com solução de Ringer lactato (RL) objetivando normalizar a pressão arterial média (PAM). Além disso, no mesmo momento, os animais desse grupo receberam 35 U/kg de FXIII -Fibrogamin®-(CSL Bhering GmbH, Marburg, Alemanha) por via endovenosa.
- Grupo 3 (G3) – FXIII mais hipotensão permissiva (FXIII / HP): submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o grupo 2, exceto pela reposição volêmica que neste grupo teve como objetivo a manutenção da PAM entre 45 e 50 mmHg



durante a fase de reanimação (aproximadamente 60% da PAM basal dos animais).

- Grupo 4 (G4) – FXIII e DDAVP mais reposição volêmica normotensiva (FXIII / DDAVP / RVN): submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o grupo 2 com adição de acetato de desmopressina-4 mcg/ml – DDAVP® (Ferring Pharmaceuticals, Limhamn, Suécia) na dose de 0.3 µg/kg por via endovenosa em bolus 15 minutos após o início do choque hemorrágico.
- Grupo 5 (G5) – FXIII e DDAVP mais hipotensão permissiva (FXIII / DDAVP / HP): submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o grupo 3, com adição de acetato de desmopressina-4 mcg/ml – DDAVP® (Ferring Pharmaceuticals, Limhamn, Suécia) na dose de 0.3 µg/kg por via endovenosa em bolus 15 minutos após o início do choque hemorrágico.
- Grupo 6 (G6) – Reposição volêmica normotensiva (RVN): submetidos ao procedimento para instalação de choque hemorrágico e reposição volêmica com RL objetivando normalizar a PAM. Não foram administradas drogas neste grupo.
- Grupo 7 (G7) – FXIII sem choque: submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o grupo 1, seguidos da administração de 35 U/kg de FXIII (Fibrogamin®) por via endovenosa.
- Grupo 8 (G8) – FXIII mais DDAVP sem choque: submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o grupo 1, seguidos da administração de 35 U/Kg de FXIII (Fibrogamin®) e acetato de desmopressina 4 mcg/ml – DDAVP® (Ferring Pharmaceuticals, Limhamn, Suécia) na dose de 0.3 µg/kg por via endovenosa.
- Grupo 9 (G9) – hipotensão permissiva sem drogas (HP): submetidos ao procedimento para instalação de choque hemorrágico e reposição volêmica com Ringer Lactato com o objetivo de manter a PAM entre 45 e 50 mmHg durante a fase de reanimação (aproximadamente 60% da PAM basal dos animais). Não foram administradas drogas neste grupo.

O período de 15 minutos entre a instalação do choque e o início da reanimação, independentemente da estratégia de reanimação utilizada, deve-se ao tempo médio gasto pelas equipes de atendimento pré-hospitalar para chegar até a vítima.



**Figura 1 – Fases do experimento**

A fase de reposição volêmica teve duração de 90 minutos e o tempo total do experimento 105 minutos, incluindo o período sem intervenção após o início do choque (15 minutos). Esses tempos foram escolhidos para simular os tempos médios que ocorrem nos acidentes com humanos, ou seja, 15 minutos entre o acidente e a chegada do atendimento pré-hospitalar, e 90 minutos compreendendo o tempo de transporte até o hospital e de atendimento na sala de emergência. O tempo total do experimento é compatível, portanto, com o tempo médio desde o momento do trauma até a sala de operações em situações reais (Figura 1).

## 3.2 Anestesia

Os animais foram inicialmente anestesiados com 60 mg/kg de Cloridrato de Cetamina (Rhobifarma, Hortolândia, SP, Brasil) e 8 mg/kg de Cloridrato de Xilazina 2% (Rhobifarma, Hortolândia, SP, Brasil) por via intramuscular. Durante o experimento, doses adicionais (15 mg/kg de Cetamina e 2 mg/kg de Xilazina) foram administradas por via endovenosa de acordo com a necessidade.

## 3.3 Procedimento cirúrgico

### 3.3.1 Preparação das áreas a serem operadas

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal e realizada a tonsura dos pelos das regiões cervical e abdominal. Em seguida, as áreas a serem operadas foram degermadas com povinilpirrolidona iodo a 1% (Cincord Sul Química e Farmacêutica, Ribeirão Preto, SP).

### 3.3.2 Traqueostomia, acessos venosos, exames basais e monitorização

Por meio de uma incisão de 10 mm na região cervical realizou-se a traqueostomia com colocação de segmento de cateter de silicone nº 12 (Becton Dickson, Juiz de Fora, MG). Em seguida foram dissecados os seguintes vasos: veia jugular interna direita (VJID) e artéria carótida comum direita (ACD). Os vasos foram canulados com cateter de polietileno (PE-10) (Clay Adams, Becton Dickinson, Sparks, MD, EUA) de 10 cm de comprimento e previamente preenchidos com 1ml de RL. Não se utilizou heparina em nenhum momento. A VJID foi utilizada para infusão de líquidos e a ACD para monitorização da pressão intra-arterial (PIA) e obtenção de amostras de sangue para análises. O cateter posicionado na ACD foi conectado a transdutor de pressão (Gould Statham, Cleveland, OH, EUA) para monitorização da PIA em sistema de monitorização contínua (Pro-Pac Protocol Systems, Beaverton, OR, EUA). Os dados foram armazenados eletronicamente (IBM Personal Computer, Akron OH, EUA), utilizando “software” específico (DATAQ Instruments, Inc. Software, Akron, OH, EUA).

Após período de estabilização de 5 minutos colheram-se 3ml de sangue arterial por meio de seringas de 1 ml que foram imediatamente transferidos para um tubo de microcoleta (3ml) a vácuo (MiniCollect – Vacuette, Monroe, EUA) contendo citrato como anticoagulante. A amostra foi utilizada para a realização da TEM. Ao longo de todo o procedimento os animais foram mantidos em colchão térmico a 37°C e a temperatura corporal monitorizada por via retal.

### 3.3.3 Procedimento abdominal e lesão da aorta

Após laparotomia mediana de 4 cm, a aorta infra-renal foi dissecada e exposta. Em seguida, fez-se sutura contínua em bolsa nas bordas da laparotomia com fio de nylon (Mononylon 2-0, Brasuture, Londrina, PR), sem fechar a cavidade abdominal. Na parede lateral esquerda da aorta infra-renal foi realizada lesão puntiforme, não transfixante, com agulha calibre 16G (Becton Dickinson Ind. Cirúrgica Ltda. Curitiba, PR, Brasil). O momento da perfuração da aorta foi considerado o tempo zero (T0) do experimento. Imediatamente após a lesão, as extremidades do fio utilizado na sutura contínua realizada previamente foram tracionadas, fechando a cavidade abdominal.

### 3.3.4 Fase de choque hemorrágico e reposição volêmica

A PAM foi registrada continuamente e anotada a cada cinco minutos. Somente foram incluídos no estudo animais que permaneceram vivos, com respiração espontânea, por 10 minutos após a lesão da aorta. Todos os animais mortos antes do final do experimento foram substituídos e necropsiados. A reposição volêmica foi com RL infundido através do cateter da VJID, por meio de bomba de infusão (Stoelting Co. Wood Dale, IL, EUA), iniciada 15 minutos após a lesão. O volume total de RL infundido em cada animal foi determinado pela PAM a ser obtida nos diferentes grupos e a infusão mantida por 90 minutos de forma a manter os valores pressóricos basais nos grupos de RVN e 60% dos valores basais nos grupos de HP. O FXIII isolado ou associado à DDAVP foi administrado por via endovenosa nos animais randomizados para receberem estas drogas.

Ao final do experimento (105 minutos após a lesão) recolheram-se novas amostras de sangue por meio do cateter posicionado na ACD visando a realização de nova TEM.

### 3.3.5 Procedimentos abdominais após a reposição volêmica.

Imediatamente após a obtenção das amostras de sangue, os pontos da parede abdominal foram retirados permitindo-se acessar a cavidade abdominal. Todo o sangue na cavidade foi retirado com o uso de gazes e o volume do sangramento abdominal foi calculado por meio da diferença entre o peso das gazes secas comparado ao das gazes embebidas de sangue. As gazes foram pesadas em balança eletrônica de precisão (EK 1200A, A & D Company, Japão). O coágulo mais próximo da lesão na artéria aorta foi retirado e um fragmento de 2 x 2 mm fixado em solução de glutaraldeído a 2,5% com tampão fosfato 0,1M por 12 h a 4°C e encaminhado para estudo de microscopia eletrônica. Ao final do experimento os animais foram sacrificados por sangria ainda sob anestesia geral.

## 3.4 Tromboelastometria

A TEM avalia as alterações da viscoelasticidade do sangue durante o processo de coagulação as quais são traduzidas num registro gráfico. Uma amostra de sangue, com ou sem citrato, é colocada em uma cuveta a 37 C° e mantida em contato com um pino (sensor) com uma oscilação contínua entre ambos num ângulo de 4°45'. À medida que a fibrina vai sendo formada entre o pino e a cuveta, as alterações da viscoelasticidade do coágulo são detectadas e um registro gráfico é gerado. Os parâmetros da TEM mais frequentemente utilizados são (Figura 2):

- CT (*clot time*): intervalo de tempo em segundos desde o início do teste até o início da coagulação (quando a curva atinge 2 mm de amplitude), reflete o tempo gasto para a geração de fibrina e a atividade dos fatores de coagulação.
- CFT (*clot formation time*): tempo em segundos entre o início da coagulação até a curva atingir a amplitude de 20 mm. Representa a cinética de formação do coágulo.
- Ângulo alfa (ALFA): medida em graus do ângulo formado entre a linha de base e a tangente da curva com 2 mm de amplitude. Indica também a aceleração e a cinética da formação do coágulo e da rede de fibrina de modo a que quanto maior o ângulo, maior será a taxa de geração de fibrina.
- A10: amplitude do coágulo em milímetros 10 minutos após o início da coagulação
- MCF (*maximum clot firmness*): é o ponto de maior amplitude da curva medido em milímetros e representa a força máxima do coágulo, refletindo a interação entre as plaquetas e a rede de fibrina. Está diretamente relacionado à concentração e função plaquetária e à quantidade de fibrinogênio
- MCFT (*maximum clot firmness time*): tempo gasto em segundos para a curva atingir a amplitude máxima
- MAXV (*maximum velocity*): mede a velocidade ou a taxa máxima de formação do coágulo em milímetros/segundo
- MAXVT (*maximum velocity time*): tempo em segundos gasto para a reação atingir a velocidade máxima
- AUC (*area under the curve*): cálculo integral da área sob a curva da reação até atingir o MCF, tem relação direta com o MCF
- LI30 (*lyses index*): índice de lise do coágulo aos 30 minutos, é calculado em função da redução da amplitude aos 30 minutos em relação à amplitude máxima e reflete a atividade fibrinolítica
- ML (*maximum lysis*): lise máxima do coágulo em milímetros

Fonte: David JS et al, *Anesthesiology* 2013, 119(1): 191-200 (76)

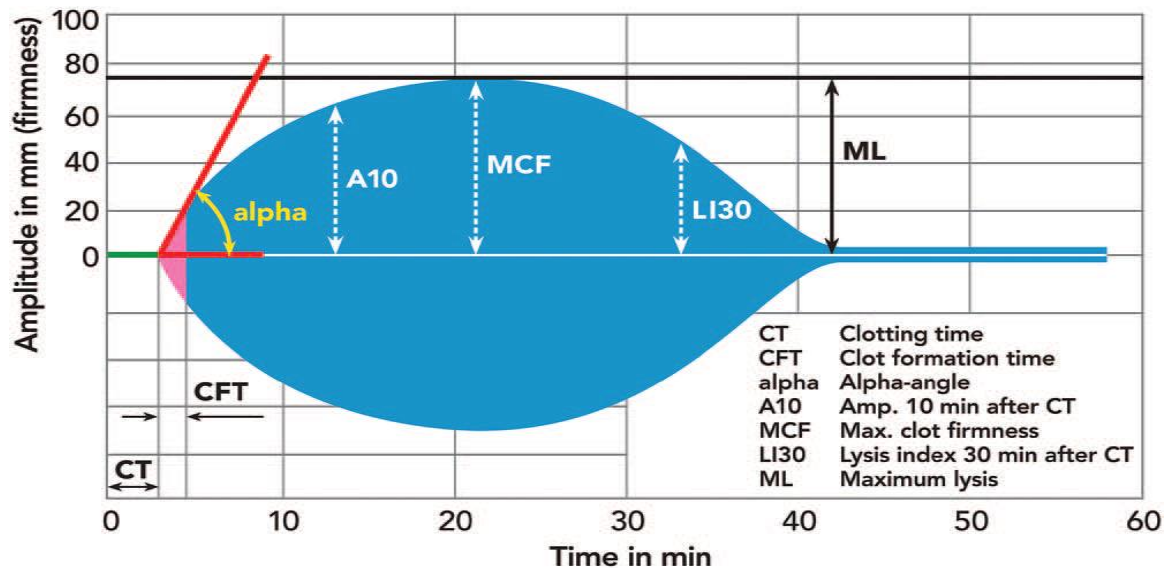


Figura 2 – Parâmetros da tromboelastometria

O aparelho utilizado para a realização da tromboelastometria foi o ROTEM® (Pentapharm, Munich, Germany). As amostras para a tromboelastometria foram colhidas com seringas de 1 ml e imediatamente transferidas para tubo de microcoleta (3ml) a vácuo (MiniCollect - Vacuette, Monroe, EUA) contendo citrato como anticoagulante, de forma a não ocorrer coagulação da amostra. Após um período de 15 a 30 minutos iniciamos a análise no tromboelastômetro. O único teste utilizado foi o NATEM® (Non-activated TEM), sem adição de ativador da coagulação. Neste teste, a coagulação se inicia por recalcificação da amostra de sangue e ativação espontânea por contato. Todas as análises foram realizadas conforme as recomendações do fabricante.

Para a interpretação dos resultados da TEM deve-se considerar que todas as análises realizadas levaram em consideração a variação percentual do valor final em relação ao valor inicial. Valores negativos indicam redução no valor do parâmetro avaliado (valor inicial > valor final). Valores positivos indicam aumento do valor do parâmetro estudado (valor inicial < valor final). Por exemplo, na tabela 1, o parâmetro CT do G1 mostra variação percentual (final-inicial) de -6,7, ou seja, houve uma redução de 6,7% deste parâmetro. Da mesma forma, no G9 houve redução de 40,7% em relação aos valores iniciais do CT.

O significado desses valores em relação à coagulação depende do parâmetro estudado. O CT (*clot time*) mede o tempo (em segundos) entre o início do teste e o início formação do coágulo. Portanto, infere-se que, quanto menor este tempo, maior a coagulabilidade. O ALFA

reflete a cinética da formação do coágulo e, portanto, quanto maior o ângulo, maior a taxa de geração de fibrina. O MCF (*maximum clot firmness*) é a amplitude máxima do coágulo medida em milímetros quanto maior o MCF, mais resistente é o coágulo. O MAXVT é medida que indica o tempo gasto em segundos para a coagulação atingir a velocidade máxima. Portanto, quanto menor o MAXVT, maior a tendência à coagulação. A AUC (*area under the curve*) também representa a força do coágulo, logo, quanto maior a área, melhor a coagulação.

A análise comparativa dos resultados da TEM entre os grupos avalia a influência de cada estratégia de reanimação utilizada sobre a coagulação. Por exemplo, a comparação entre G2 e G6 demonstra que os animais do G2 coagulam melhor que os do G6 em relação ao CT, porquanto no G2 observamos redução de 48,6% e, no G6, aumento de 1,9% neste parâmetro ( $p=0,008$ ) (Tabela 6).

### 3.5 Análises

As informações coletadas foram digitadas em um banco de dados desenvolvido no programa Microsoft Excel® 2010.

Foram analisados 54 coelhos compondo nove grupos de seis animais cada, conforme o tipo de reanimação.

As comparações entre os grupos foram realizada da seguinte forma:

- Entre os grupos controle (sem choque): G1xG7, G1xG8 e G7xG8
- Entre os grupos submetidos à RVN: G2xG4, G2xG6 e G4xG6
- Entre os grupos submetidos à HP: G3xG5, G3xG9 e G5xG9
- Entre os grupos que receberam drogas + RVN e os que receberam drogas + HP: G2xG3 e G4xG5
- Entre o G6 (reanimação padrão) e os outros tipos de reanimação: G2 a G5 x G6 e G6xG9
- Entre o G9 (HP) e os outros tipos de reanimação: G2 a G5 x G9 e G9xG6

As comparações dos parâmetros da TEM foram realizadas utilizando o percentual das diferenças em relação às medidas iniciais das medianas. Para isto, calculou-se a diferença entre a medida final e a inicial de cada parâmetro. Do valor obtido, calculou-se o percentual em relação à medida inicial, pela seguinte fórmula:  $(\text{medida final} - \text{medida inicial})/\text{medida inicial}$ .

Desta forma, valores negativos indicam redução do parâmetro avaliado (valor inicial > valor final) e valores positivos indicam aumento do parâmetro estudado (valor inicial < valor final).

As comparações entre os grupos foram feitas a partir do teste de Mann-Whitney.

Os parâmetros da TEM utilizados foram: CT, MCF, ALFA, MAXVT e AUC.

As análises foram realizadas nos *softwares* R versão 2.7.1 e Epi Info versão 6.04, ambos de domínio público.

As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas para  $P < 0,05$ .



## 4 Resultados

### 4.1 Análise descritiva

Na descrição da porcentagem em relação ao valor inicial do CT e utilizando o G1 como exemplo, observa-se que a média da porcentagem em relação ao valor inicial do CT foi de -2,2, com um desvio padrão de 45,2, mediana de -6,7, mínimo de -61,1 e máximo de 52,7. Os demais grupos são interpretados de forma semelhante (Tabela 1).

*Tabela 1 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do CT nos diferentes grupos*

Características	N	n*	Média	D.P.	Mínimo	1ºQ	Mediana	3ºQ	Máximo
Grupo 1	6	0	-2,2	45,2	-61,1	-40,9	-6,7	45,1	52,7
Grupo 2	6	0	-48,0	11,9	-62,1	-58,1	-48,6	-40,0	-27,6
Grupo 3	6	0	-36,1	21,6	-76,4	-51,7	-29,2	-19,5	-18,9
Grupo 4	6	0	-23,1	44,1	-82,3	-55,0	-33,8	26,0	34,1
Grupo 5	6	0	-50,6	22,9	-84,6	-73,9	-43,9	-35,6	-20,7
Grupo 6	6	0	27,2	76,9	-28,6	-25,6	1,9	71,0	176,8
Grupo 7	6	0	-2,3	68,6	-75,0	-67,0	-8,7	55,5	103,5
Grupo 8	6	0	-48,4	14,1	-67,4	-63,1	-46,9	-34,3	-32,9
Grupo 9	6	0	-29,5	30,3	-61,0	-52,1	-40,7	1,8	18,3

n: n° de observações; n\*: n° sem informação; D.P.: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil  
G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4: FXIII/DDAVP/RVN; G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas; RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Na descrição da porcentagem em relação ao valor inicial do MCF nos diferentes grupos e interpretando o G1 como exemplo, tem-se que a média da porcentagem em relação ao valor inicial do MCF foi de -3,6, com um desvio padrão de 25,9, mediana de -4,6, mínimo de -47,9 e máximo de 30,0. Os demais grupos são interpretados de forma semelhante (Tabela 2).

*Tabela 2 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do MCF nos diferentes grupos*

Características	N	n*	Média	D.P.	Mínimo	1ºQ	Mediana	3ºQ	Máximo
Grupo 1	6	0	-3,6	25,9	-47,9	-17,2	-4,6	16,7	30,0
Grupo 2	6	0	-29,1	20,1	-66,3	-44,1	-21,6	-15,3	-12,3
Grupo 3	6	0	-18,5	3,7	-23,5	-23,1	-16,9	-15,8	-15,0
Grupo 4	6	0	-19,3	19,6	-46,5	-38,6	-18,7	1,8	1,9
Grupo 5	6	0	-7,6	13,6	-23,4	-18,9	-9,8	4,6	13,3
Grupo 6	6	0	-19,4	12,5	-31,5	-26,9	-22,8	-12,9	4,6
Grupo 7	6	0	-0,2	6,2	-11,7	-4,1	1,4	4,1	5,9
Grupo 8	6	0	1,0	21,2	-35,0	-14,0	2,1	21,0	23,5
Grupo 9	6	0	-13,9	6,5	-22,1	-20,7	-12,9	-9,1	-4,5

n: n° de observações; n\*: n° sem informação; D.P.: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil  
G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4: FXIII/DDAVP/RVN; G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas; RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Na descrição da porcentagem em relação ao valor inicial do ALFA nos diferentes grupos e utilizando o G1 como exemplo, tem-se que a média da porcentagem em relação ao valor inicial do ALFA foi de -1,3, com um desvio padrão de 16,9, mediana de -2,4, mínimo de -25,6 e máximo de 22,7. Os demais grupos são interpretados de forma semelhante (Tabela 3).

**Tabela 3 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do ALFA nos diferentes grupos**

Características	N	n*	Média	D.P.	Mínimo	1ºQ	Mediana	3ºQ	Máximo
Grupo 1	6	0	-1,3	16,9	-25,6	-14,3	-2,4	13,7	22,7
Grupo 2	6	0	17,0	26,2	-12,3	1,3	11,6	31,2	65,8
Grupo 3	6	0	14,9	12,4	-2,6	6,2	12,3	29,0	29,7
Grupo 4	6	0	29,3	29,2	-17,2	7,6	29,2	56,9	64,7
Grupo 5	6	0	27,1	22,1	6,7	7,9	20,3	52,8	55,0
Grupo 6	6	0	-10,8	20,2	-37,8	-31,7	-8,5	8,2	13,1
Grupo 7	6	0	12,4	25,2	-15,3	-12,7	9,3	39,9	44,9
Grupo 8	6	0	8,5	15,6	-22,5	1,0	13,9	17,5	20,0
Grupo 9	6	0	27,2	38,9	5,1	6,6	13,2	40,7	105,7

n: nº de observações; n\*: nº sem informação; D.P.: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil  
G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4: FXIII/DDAVP/RVN; G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas; RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Na descrição da porcentagem em relação ao valor inicial do MAXVT nos diferentes grupos e tomando o G1 como exemplo, verifica-se que a média da porcentagem em relação ao valor inicial do MAXVT foi de -1,9, com um desvio padrão de 38,1, mediana de -10, mínimo de -40,6 e máximo de 47,9. Os demais grupos são interpretados de forma semelhante (Tabela 4).

**Tabela 4 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do MAXVT nos diferentes grupos**

Características	N	n*	Média	D.P.	Mínimo	1ºQ	Mediana	3ºQ	Máximo
Grupo 1	6	0	-1,9	38,1	-40,6	-35,7	-10,0	38,8	47,9
Grupo 2	6	0	-51,1	8,0	-62,0	-57,2	-52,2	-44,1	-38,9
Grupo 3	6	0	-39,2	17,9	-73,5	-48,2	-34,6	-27,9	-23,6
Grupo 4	5	1	-23,1	38,7	-66,2	-56,6	-23,0	10,3	36,0
Grupo 5	6	0	-53,8	20,4	-82,9	-75,1	-49,6	-37,3	-27,9
Grupo 6	6	0	22,6	82,4	-51,4	-33,1	-11,8	94,3	167,8
Grupo 7	6	0	-1,6	67,5	-74,5	-57,9	-15,1	58,0	105,3
Grupo 8	6	0	-48,7	12,9	-63,9	-60,7	-49,2	-38,3	-28,2
Grupo 9	6	0	-38,6	19,4	-66,6	-52,9	-41,7	-17,1	-15,7

n: nº de observações; n\*: nº sem informação; D.P.: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil  
G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4: FXIII/DDAVP/RVN; G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas; RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Na descrição da porcentagem em relação ao valor inicial do AUC nos diferentes grupos e analisando o G1 como exemplo, tem-se que a média da porcentagem em relação ao valor inicial do AUC foi de -3,8, com um desvio padrão de 24,4, mediana de -3,9, mínimo de -46,2 e máximo de 26,4. Os demais grupos são interpretados de forma semelhante (Tabela 5).

**Tabela 5 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial do AUC nos diferentes grupos**

<b>Características</b>	<b>N</b>	<b>n*</b>	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>	<b>Mínimo</b>	<b>1ºQ</b>	<b>Mediana</b>	<b>3ºQ</b>	<b>Máximo</b>
Grupo 1	6	0	-3,8	24,4	-46,2	-17,0	-3,9	15,5	26,4
Grupo 2	6	0	-23,7	9,2	-36,1	-33,2	-21,7	-16,3	-12,4
Grupo 3	6	0	-18,9	5,8	-28,1	-25,2	-15,9	-14,9	-14,1
Grupo 4	6	0	-21,0	18,0	-46,9	-38,9	-19,0	-2,7	-1,4
Grupo 5	6	0	-7,9	12,5	-23,2	-18,4	-9,3	3,2	10,6
Grupo 6	6	0	-20,1	11,9	-30,3	-26,9	-23,7	-14,4	3,2
Grupo 7	6	0	-1,1	5,9	-11,5	-5,0	0,1	2,9	6,2
Grupo 8	6	0	1,0	21,7	-33,9	-16,6	2,3	21,4	26,2
Grupo 9	6	0	-14,4	7,6	-25,1	-20,3	-14,0	-9,7	-2,2

n: nº de observações; n\*: nº sem informação; D.P.: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil  
G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4: FXIII/DDAVP/RVN; G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN;  
G7: FXIII/sem choque G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas; RVN: reposição volêmica normoten-  
siva; HP: hipotensão permissiva.

## 4.2 Análise comparativa

Esta seção apresenta as comparações entre os grupos especificados e as características CT, MCF, ALFA, MAVX-t e AUC.

### 4.2.1 Clot time – CT

A Tabela 6 apresenta a comparação entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica CT.

Ao interpretar a comparação G1 e G8, observa-se que a mediana do Grupo 1 foi -6,7% e do Grupo 8 foi -46,9%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,045), indicando que a mediana do Grupo 1 é 43,4% maior que a mediana do Grupo 8 (IC<sub>95%</sub>: 0,57% a 96,0%).

Para a comparação G6 e G2, observa-se que a mediana do Grupo 6 foi 1,9% e do Grupo 2 foi -48,6%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,008), indicando que a mediana do Grupo 6 é 52,2% maior que a mediana do Grupo 2 (IC<sub>95%</sub>: 22,0% a 204,4%).

Quanto à comparação G6 e G5, observa-se que a mediana do Grupo 6 foi 1,9% e do Grupo 5 foi -43,9%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,013), indicando que a mediana do Grupo 6 é 53,6% maior que a mediana do Grupo 5 (IC<sub>95%</sub>: 16,0% a 197,4%).

E por fim a comparação G3 e G6, na qual observa-se que a mediana do Grupo 3 foi -29,2% e do Grupo 6 de 1,9%. Há significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,045), indicando que a mediana do Grupo 3 é 38,9% menor que a mediana do Grupo 6 (IC<sub>95%</sub>: -195,7% a -2,0%). Estes resultados estão representados na Figura 3.

Tabela 6 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica CT

Grupos	Porcentagem em relação ao valor inicial			
	Mediana	Diferença	IC95%	Valor-p
G1 e G9	-6,7 -40,7	24,2	-23,9 a 89,9	0,298 <sup>1</sup>
G1 e G6	-6,7 1,9	-15,9	-124,1 a 45,9	0,689 <sup>1</sup>
G9 e G6	-40,7 1,9	-38,0	-158,5 a 11,5	0,066 <sup>1</sup>
G1 e G7	-6,7 -8,7	6,4	-78,4 a 86,7	0,689 <sup>1</sup>
G1 e G8	-6,7 -46,9	43,4	0,57 a 96,0	0,045 <sup>1</sup>
G7 e G8	-8,7 -46,9	41,4	-24,5 a 136,4	0,472 <sup>1</sup>
G6 e G2	1,9 -48,6	52,2	22,0 a 204,4	0,008 <sup>1</sup>
G6 e G4	1,9 -33,8	35,8	-27,3 a 142,7	0,128 <sup>1</sup>
G2 e G4	-48,6 -33,8	-17,0	-80,0 a 20,2	0,230 <sup>1</sup>
G9 e G3	-40,7 -29,2	-3,3	-29,4 a 39,7	0,936 <sup>1</sup>
G9 e G5	-40,7 -43,9	19,1	-16,6 a 61,7	0,379 <sup>1</sup>
G3 e G5	-29,2 -43,9	14,7	-9,9 a 50,5	0,230 <sup>1</sup>
G2 e G5	-48,6 -43,9	-2,8	-21,6 a 27,9	0,810 <sup>1</sup>
G2 e G9	-48,6 -40,7	-11,0	-58,4 a 10,4	0,298
G6 e G5	1,9 -43,9	53,6	16,0 a 197,4	0,013 <sup>1</sup>
G6 e G9	1,9 -40,7	38,0	-11,5 a 158,5	0,066 <sup>1</sup>
G2 e G3	-48,6 -29,2	-17,5	-31,7 a 15,7	0,174 <sup>1</sup>
G4 e G5	-33,8 -43,9	20,1	-18,3 a 77,5	0,298 <sup>1</sup>
G3 e G6	-29,2 1,9	-38,9	-195,7 a -2,0	0,045 <sup>1</sup>

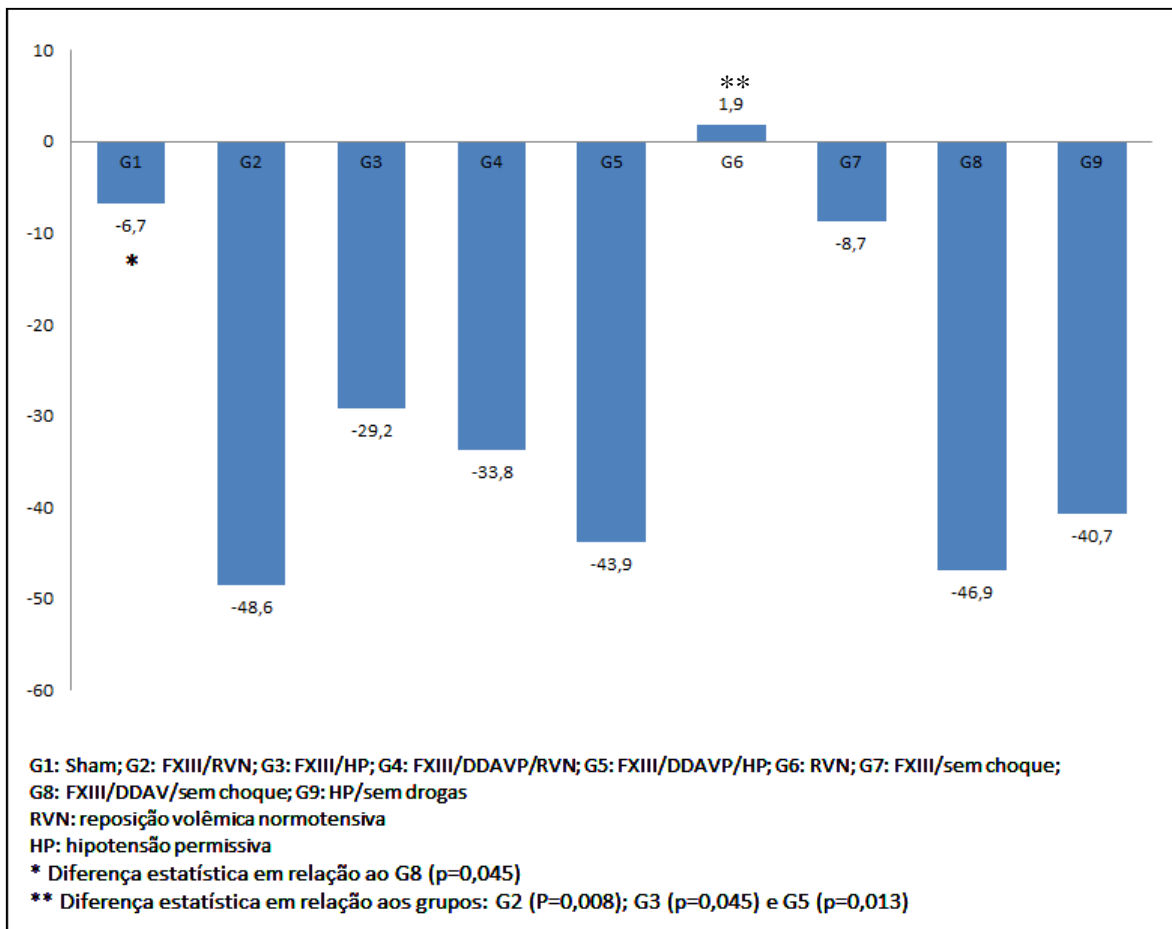
1: Mann-Whitney IC: Intervalo de confiança

G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4:FXIII/DDAVP/RVN;

G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque;

G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas;

RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.



*Figura 3 – Variação percentual de CT em relação ao valor inicial*

## 4.2.2 Maximum clot firmness – MCF

A Tabela 7 apresenta a comparação entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica MCF.

**Tabela 7 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica MCF**

Grupos	Porcentagem em relação ao valor inicial			
	Mediana	Diferença	IC95%	Valor-p
G1 e G9	-4,6 -12,9	11,8	-25,8 a 34,5	0,128 <sup>1</sup>
G1 e G6	-4,6 -22,8	18,5	-16,4 a 43,8	0,173 <sup>1</sup>
G9 e G6	-12,9 -22,8	8,3	-9,1 a 18,2	0,128 <sup>1</sup>
G1 e G7	-4,6 1,4	-5,5	-36,2 a 24,0	0,689 <sup>1</sup>
G1 e G8	-4,6 2,1	-6,7	-30,4 a 29,0	0,810 <sup>1</sup>
G7 e G8	1,4 2,1	-1,7	-21,7 a 23,3	0,936 <sup>1</sup>
G6 e G2	-22,8 -21,6	1,8	-10,4 a 40,9	0,936 <sup>1</sup>
G6 e G4	-22,8 -18,7	-0,9	-24,7 a 23,6	0,936 <sup>1</sup>
G2 e G4	-21,6 -18,7	-11,7	-38,5 a 19,6	0,471 <sup>1</sup>
G9 e G3	-12,9 -16,9	4,5	-4,2 a 12,1	0,128 <sup>1</sup>
G9 e G5	-12,9 -9,8	-5,6	-23,8 a 8,9	0,575 <sup>1</sup>
G3 e G5	-16,9 -9,8	-9,5	-28,3 a 1,3	0,128 <sup>1</sup>
G2 e G5	-21,7 -9,3	-18,7	-49,0 a 1,0	0,066 <sup>1</sup>
G2 e G9	-21,7 -14,0	-9,1	-44,2 a 2,2	0,093 <sup>1</sup>
G6 e G5	-22,8 -9,8	-9,9	-32,1 a 2,9	0,128 <sup>1</sup>
G6 e G9	-22,8 -12,9	-8,3	-18,2 a 9,1	0,128 <sup>1</sup>
G2 e G3	-21,6 -16,9	-2,5	-42,8 a 4,9	0,298 <sup>1</sup>
G4 e G5	-18,7 -9,8	-11,5	-35,2 a 16,1	0,471 <sup>1</sup>
G3 e G6	-16,9 -22,8	4,4	-19,6 a 9,3	0,337 <sup>1</sup>

1: Mann-Whitney IC: Intervalo de confiança

G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4:FXIII/DDAVP/RVN;

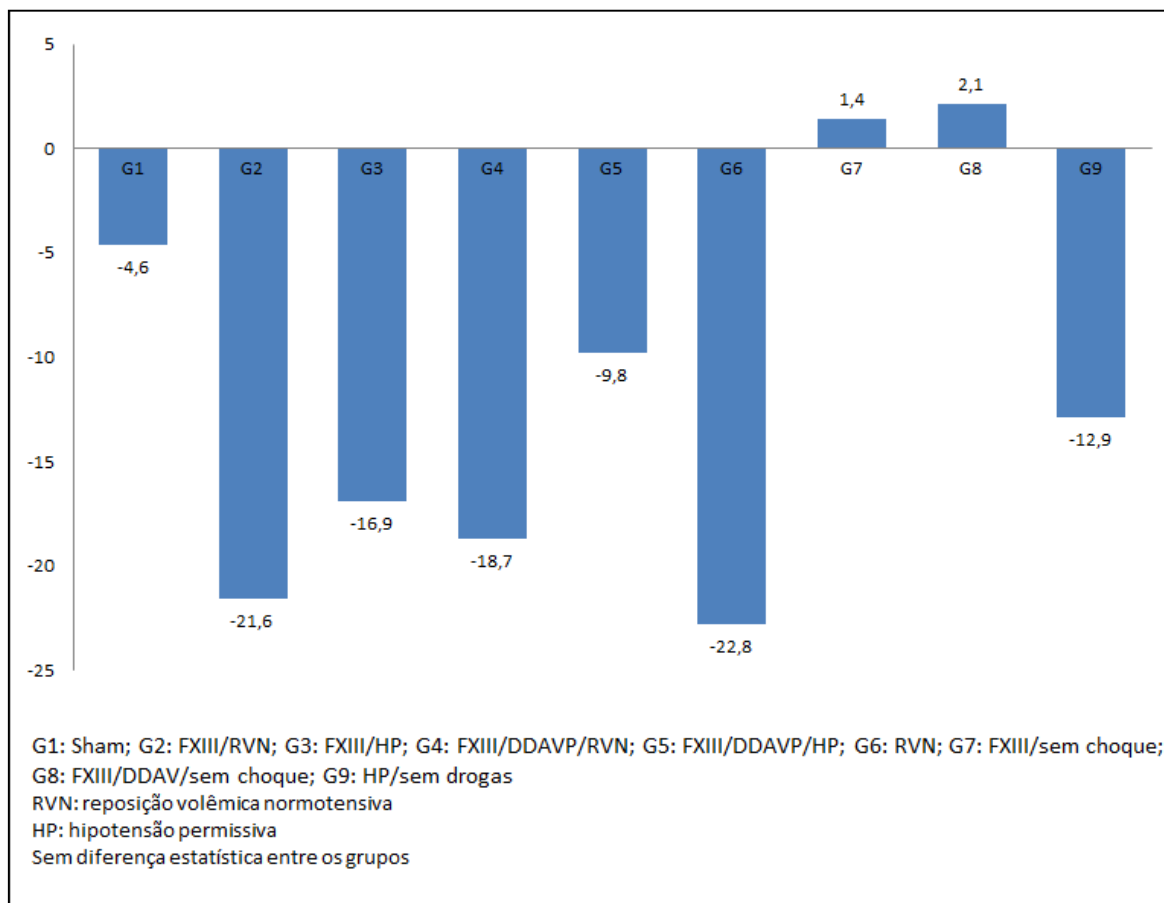
G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque;

G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas;

RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Não se observa diferença com significância estatística entre os grupos comparados, ou seja, as medianas não diferem e por isso as diferenças não podem ser interpretadas.

Estes resultados estão representados na Figura 4.



**Figura 4 – Variação percentual do MCF em relação ao valor inicial**

#### 4.2.3 Ângulo Alfa - ALFA

A Tabela 8 apresenta a comparação entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica ALFA.

Ao interpretar a comparação G9 e G6, verifica-se que a mediana do grupo 9 foi de 13,2% e do grupo 6 foi de -8,5%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,031), indicando que a mediana do Grupo 9 é 27,6% maior que a mediana do Grupo 6 (IC<sub>95%</sub>: 2,1% a 92,6%).

Em relação à comparação G6 e G4 verifica-se que a mediana do grupo 6 foi de -8,5% e do grupo 4 foi de 29,2%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p =



0,031), indicando que a mediana do Grupo 6 é 43,3% menor que a mediana do Grupo 4 (IC<sub>95%</sub>: -71,1% a -9,4%).

**Tabela 8 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial ALFA**

Grupos	Porcentagem em relação ao valor inicial			
	Mediana	Diferença	IC95%	Valor-p
G1 e G9	-2,4 13,2	-17,1	-83 a 3,7	0,128 <sup>1</sup>
G1 e G6	-2,4 -8,5	8,8	-17,1 a 37,0	0,471 <sup>1</sup>
G9 e G6	13,2 -8,5	27,6	2,1 a 92,6	0,031 <sup>1</sup>
G1 e G7	-2,4 9,3	-13,6	-44,6 a 16,7	0,471 <sup>1</sup>
G1 e G8	-2,4 13,9	-12,5	-30,6 a 11,9	0,298 <sup>1</sup>
G7 e G8	9,3 13,9	1,7	-28,6 a 30,4	0,936 <sup>1</sup>
G6 e G2	-8,5 11,6	-23,9	-57,4 a 1,1	0,093 <sup>1</sup>
G6 e G4	-8,5 29,2	-43,3	-71,1 a -9,4	0,031 <sup>1</sup>
G2 e G4	11,6 29,2	-13,7	-48,5 a 29,2	0,378 <sup>1</sup>
G9 e G3	13,2 12,3	-1,2	-20,3 a 76,0	0,936 <sup>1</sup>
G9 e G5	13,2 20,3	-2,6	-43,5 a 50,7	0,689 <sup>1</sup>
G3 e G5	12,3 20,3	-10,2	-42,2 a 18,1	0,575 <sup>1</sup>
G2 e G5	11,6 20,3	-7,6	-43,0 a 12,9	0,689 <sup>1</sup>
G2 e G9	11,6 13,2	-2,1	-39,9 a 14,5	0,936 <sup>1</sup>
G6 e G5	-8,5 20,3	-39,7	-67,6 a -4,2	0,020 <sup>1</sup>
G2 e G3	11,6 12,3	-1,2	-23,0 a 36,1	0,810 <sup>1</sup>
G4 e G5	29,2 20,3	6,4	-30 a 43,6	0,689 <sup>1</sup>
G3 e G6	12,3 -8,5	24,7	0,1 a 50,0	0,045 <sup>1</sup>

1: Mann-Whitney IC: Intervalo de confiança

G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4:FXIII/DDAVP/RVN;

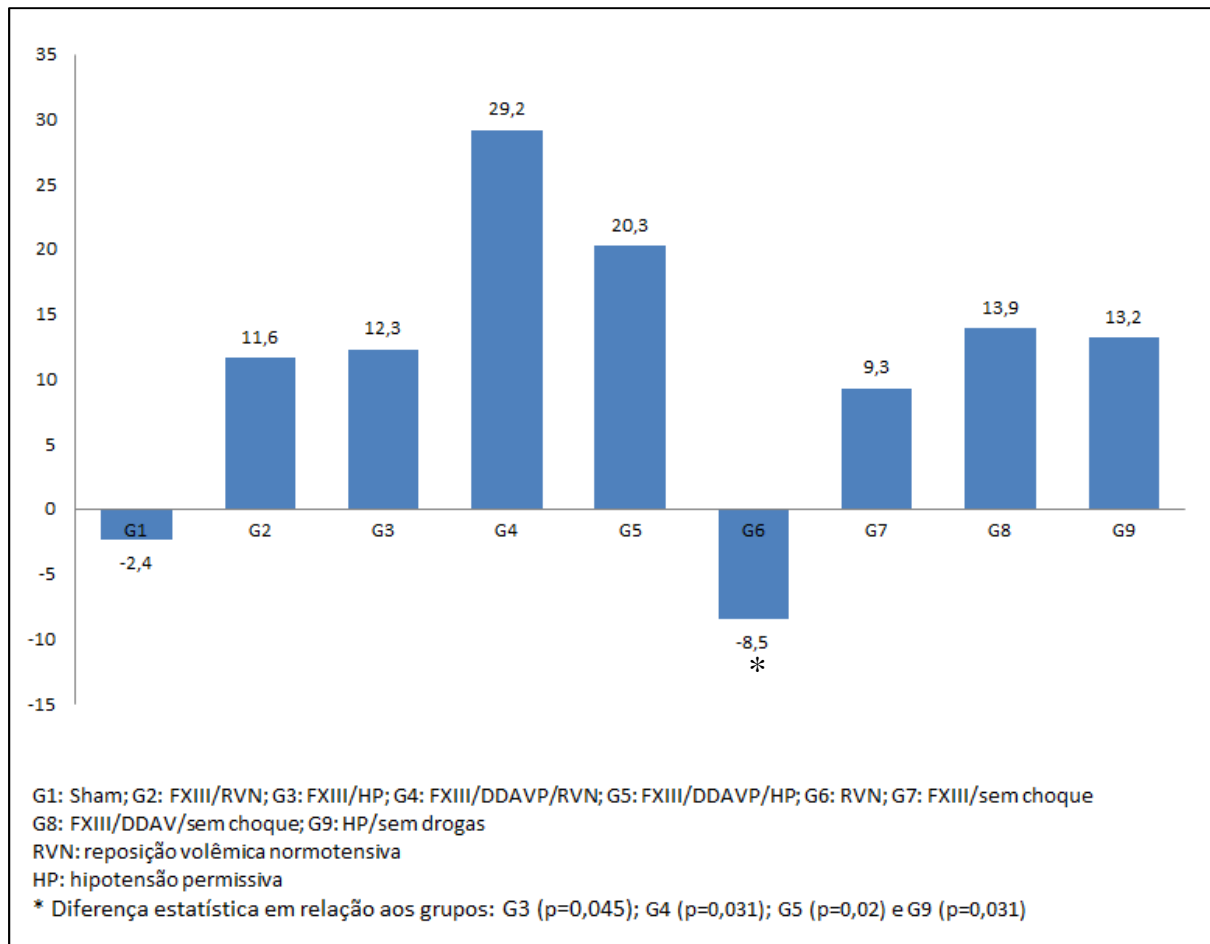
G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque;

G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas;

RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Quanto à comparação G6 e G5 nota-se que a mediana do grupo 6 foi de -8,5% e do grupo 5 foi de 20,3%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,020), indicando que a mediana do Grupo 6 é 39,7% menor que a mediana do Grupo 5 (IC<sub>95%</sub>: -67,6% a -4,2%).

Para a comparação entre o G3 e G6, observa-se que a mediana do grupo 3 foi 12,3% e, do grupo 6, -8,5%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,045), indicando que a mediana do Grupo 3 é 24,7% maior que a mediana do Grupo 6 (IC<sub>95%</sub>: 0,1% a 50%). Estes resultados estão representados na Figura 5.



**Figura 5 – Variação do ALFA em relação ao valor inicial**

## 4.2.4 Maximum velocity time – MAXVT

A Tabela 9 apresenta a comparação entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica MAXVT.

**Tabela 9 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica MAXVT.**

Grupos	Porcentagem em relação ao valor inicial			
	Mediana	Diferença	IC95%	Valor-p
G1 e G9	-10,0 -41,7	29,3	-11,1 a 84,1	0,093 <sup>1</sup>
G1 e G6	-10,0 -11,8	-8,2	-119,9 a 60,5	0,689 <sup>1</sup>
G9 e G6	-41,7 -11,8	-31,6	-183,5 a 9,1	0,173 <sup>1</sup>
G1 e G7	-10,0 -15,1	8,3	-76,3 a 83,1	0,810 <sup>1</sup>
G1 e G8	-10,0 -49,2	36,1	7,5 a 94,3	0,020 <sup>1</sup>
G7 e G8	-15,1 -49,2	31,0	-14,9 a 133,5	0,298 <sup>1</sup>
G6 e G2	-11,8 -52,2	38,7	10,6 a 206,7	0,013 <sup>1</sup>
G6 e G4	-11,8 -23,0	23,3	-35,9 a 183,3	0,523 <sup>1</sup>
G2 e G4	-52,2 -23,0	-26,3	-88,1 a 14	0,235 <sup>1</sup>
G9 e G3	-41,7 -34,6	-2,1	-24,8 a 24,0	1,000 <sup>1</sup>
G9 e G5	-41,7 -49,6	11,9	-15,7 a 38,8	0,173 <sup>1</sup>
G3 e G5	-34,6 -49,6	11,3	-11,4 a 43,2	0,174 <sup>1</sup>
G2 e G5	-52,2 -49,6	-1,35	-18,0 a 27,4	0,936 <sup>1</sup>
G2 e G9	-52,2 -41,7	-12,2	-36,4 a 9,5	0,230 <sup>1</sup>
G6 e G5	-11,8 -49,6	48,8	3,1 a 195,7	0,031 <sup>1</sup>
G6 e G9	-11,8 -41,7	31,5	-9,1 a 183,5	0,174 <sup>1</sup>
G2 e G3	-52,2 -34,6	-16,0	-28,5 a 11,5	0,128 <sup>1</sup>
G4 e G5	-23,0 -49,6	25,5	-17,7 a 84,5	0,121 <sup>1</sup>
G3 e G6	-34,6 -11,8	-30,8	-191,4 a 3,4	0,093 <sup>1</sup>

1: Mann-Whitney IC: Intervalo de confiança

G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4:FXIII/DDAVP/RVN;

G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque;

G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas;

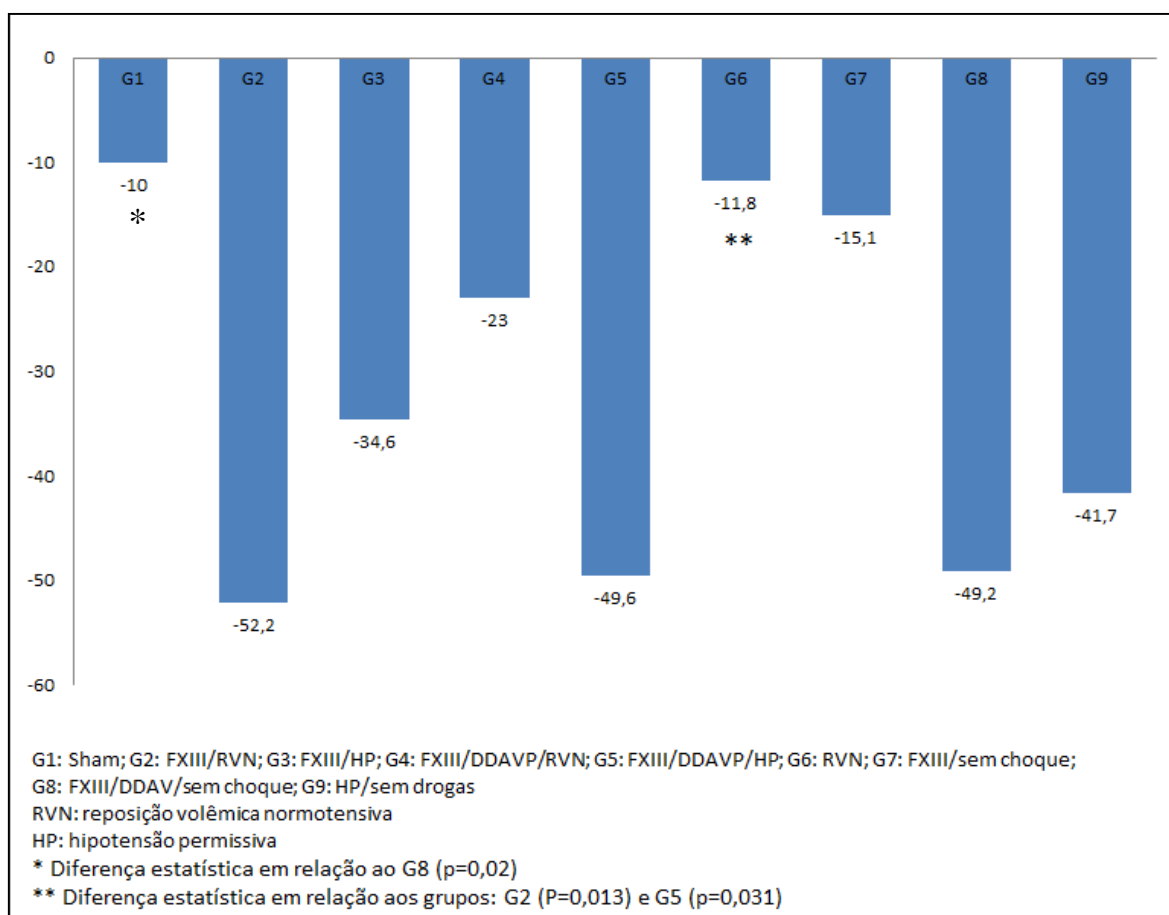
RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Ao interpretar a comparação G1 e G8, observa-se que a mediana do Grupo 1 foi -10% e do Grupo 8 foi -49,2%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,020), indicando que a mediana do Grupo 1 é 36,1% maior que a mediana do Grupo 8 (IC<sub>95%</sub>: 7,5% a 94,3%).

Para a comparação G6 e G2, verifica-se que a mediana do Grupo 6 foi -11,8% e do Grupo 2 foi -52,2%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,013), indicando que a mediana do Grupo 6 é 38,7% maior que a mediana do Grupo 2 (IC<sub>95%</sub>: 10,6% a 206,7%).

Em relação à comparação G6 e G5, verifica-se que a mediana do Grupo 6 foi -11,8% e, do Grupo 5, de -49,6%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,031), indicando que a mediana do Grupo 6 é 48,8% maior que a mediana do Grupo 5 (IC<sub>95%</sub>: 3,1% a 195,7%).

Estes resultados estão representados na Figura 6.



**Figura 6 – Variação percentual do MAXVT em relação ao valor inicial**

## 4.2.5 Area under the curve – AUC

A Tabela 10 apresenta a comparação entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica AUC.

**Tabela 10 – Comparações entre os grupos e a porcentagem em relação ao valor inicial da característica AUC**

Grupos	Porcentagem em relação ao valor inicial			
	Mediana	Diferença	IC95%	Valor-p
G1 e G9	-3,9 -14,0	11,3	-21,1 a 37,0	0,173 <sup>1</sup>
G1 e G6	-3,9 -23,7	19,8	-15,9 a 42,2	0,173 <sup>1</sup>
G9 e G6	-14,0 -23,7	8,2	-5,4 a 18,0	0,173 <sup>1</sup>
G1 e G7	-3,9 0,1	-2,6	-34,7 a 23,4	0,689 <sup>1</sup>
G1 e G8	-3,9 2,3	-6,2	-33,5 a 26,6	0,810 <sup>1</sup>
G7 e G8	0,1 2,3	-2,3	-24,5 a 22,4	0,689 <sup>1</sup>
G6 e G2	-23,7 -21,7	1,4	-10,5 a 15,9	0,936 <sup>1</sup>
G6 e G4	-23,7 -19,0	-2,3	-21,5 a 22,5	0,936 <sup>1</sup>
G2 e G4	-21,7 -19,0	-2,6	-22,3 a 18,6	0,810 <sup>1</sup>
G9 e G3	-14,0 -16,0	2,9	-3,5 a 13,7	0,229 <sup>1</sup>
G9 e G5	-14,0 -9,3	-6,1	-22,8 a 8,8	0,471 <sup>1</sup>
G3 e G5	-16,0 -9,3	-10,5	-25,8 a 1,7	0,128 <sup>1</sup>
G2 e G5	-21,7 -9,3	-14,3	-31,3 a -0,7	0,045 <sup>1</sup>
G2 e G9	-21,7 -14,0	-8,7	-21,7 a 1,3	0,128 <sup>1</sup>
G6 e G5	-23,7 -9,3	-11,3	-30,8 a 2,5	0,093 <sup>1</sup>
G6 e G9	-23,7 -14,0	-8,3	-18,0 a 5,4	0,174 <sup>1</sup>
G2 e G3	-21,7 -16,0	-3,2	-17,1 a 6,2	0,298 <sup>1</sup>
G4 e G5	-19,0 -9,3	-12,5	-33,1 a 10,8	0,298 <sup>1</sup>
G3 e G6	-15,9 -23,7	5,6	-17,3 a 10,6	0,379 <sup>1</sup>

1: Mann-Whitney IC: Intervalo de confiança

G1: Sham; G2: FXIII/RVN; G3: FXIII/HP; G4:FXIII/DDAVP/RVN;

G5: FXIII/DDAVP/HP; G6: RVN; G7: FXIII/sem choque;

G8: FXIII/DDAVP/sem choque; G9:HP/sem drogas;

RVN: reposição volêmica normotensiva; HP: hipotensão permissiva.

Ao interpretar a comparação G2 e G5, como exemplo, observa-se que a mediana do Grupo 2 foi de -21,7% e do Grupo 5 foi de -9,3%. Observa-se significância estatística nesta comparação (valor-p = 0,045), indicando que a mediana do Grupo 2 é 14,3% menor que a mediana do Grupo 5 (IC<sub>95%</sub>: -31,3% a -0,7%).

Estes resultados estão representados na Figura 7.

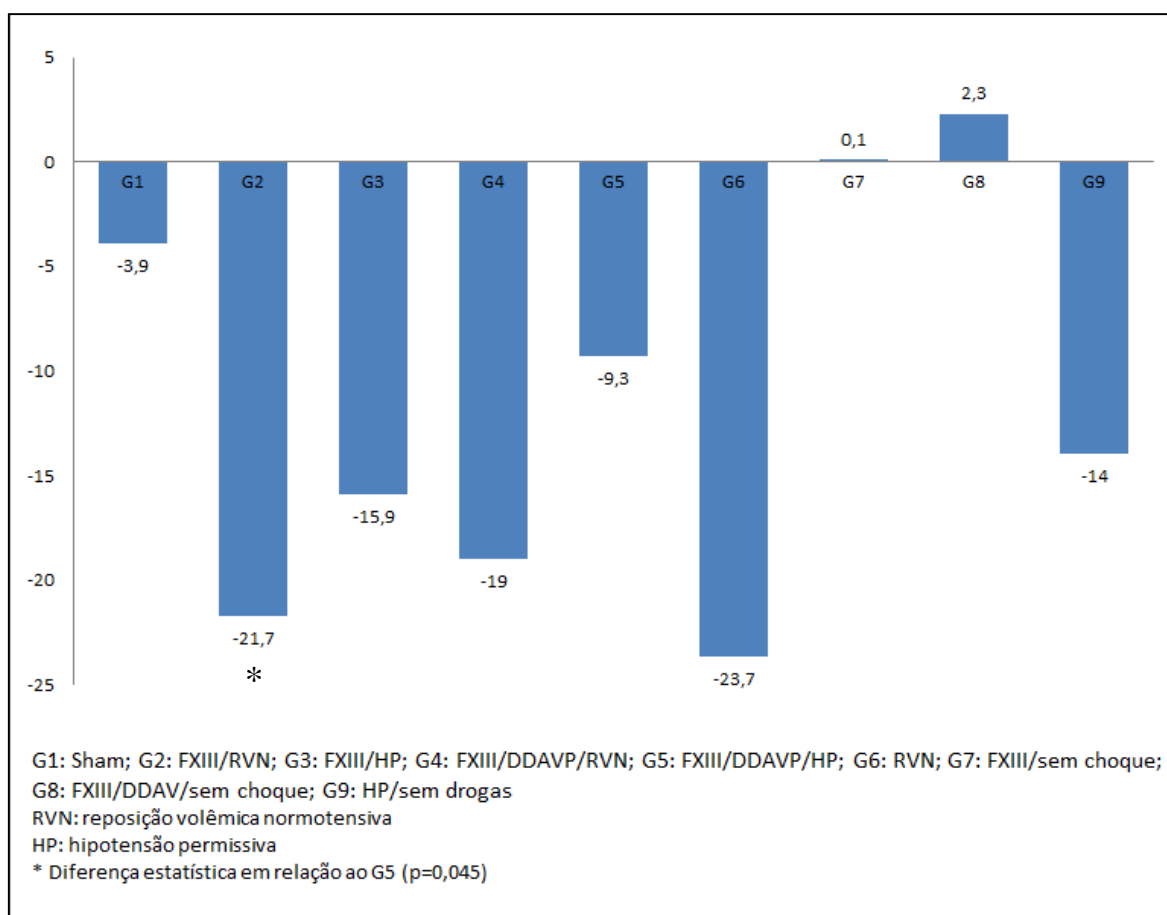


Figura 7 – Análise descritiva da porcentagem em relação ao valor inicial – AUC

Em resumo, análise isolada de cada parâmetro do Rotem®, denota as seguintes diferenças:

- **-CT:** A redução do CT indica início mais rápido da formação do coágulo. Observa-se uma redução significativa deste parâmetro nas seguintes comparações: G8 em relação ao G1 (-46,9% X -6,7%, p=0,045); G2 em relação ao G6 (-48,6% X 1,9%, p=0,008); G5 em relação ao G6 (-43,9% X 1,9%, p=0,013) e G3 em relação ao G6 (-29,2% X 1,9%, p=0,045). (Tabela 6)

- **-ALFA:** quanto maior o ângulo, infere-se maior taxa de geração de fibrina. Observa-se um aumento significativo do ângulo nas seguintes comparações: G3 em relação ao G6 (12,3% X -8,5%,  $p=0,045$ ); G4 em relação ao G6 (29,2% X -8,5%,  $p=0,031$ ); G5 em relação ao G6 (20,3% X -8,5%,  $p=0,02$ ) e G9 em relação ao G6 (13,2% X -8,5%,  $p=0,031$ ). Todos estes grupos tiveram variação positiva das medianas, ao passo que G6 (-8,5%) apresentou variação percentual negativa. (Tabela 8)
- **-MAXVT:** variação percentual negativa indica tempo menor para que a coagulação atinja a velocidade máxima. Observa-se uma redução significativa deste parâmetro nas seguintes comparações: G8 em relação ao G6 (-49,2% X -10%,  $p=0,02$ ); G2 em relação ao G6 (-52,2% X -11,8%,  $p=0,013$ ) e G5 em relação ao G6 (-49,6% X -11,8%,  $p=0,031$ ). (Tabela 9)
- **-AUC:** quanto maior a AUC melhor a coagulação. Observa-se uma diferença significativa na comparação entre G5 e G2. O G5 apresentou uma variação menos negativa (-9,3% X -21,7%,  $p=0,045$ ). (Tabela 10)

A Figura 8 ilustra o registro gráfico da TEM de amostras finais de animais dos grupos 5 e 6. Observa-se que o registro do G6 (fig. 8b) apresenta um prolongamento do CT, redução da amplitude do ângulo alfa e diminuição do MCF quando comparado ao do G5 (fig. 8a).

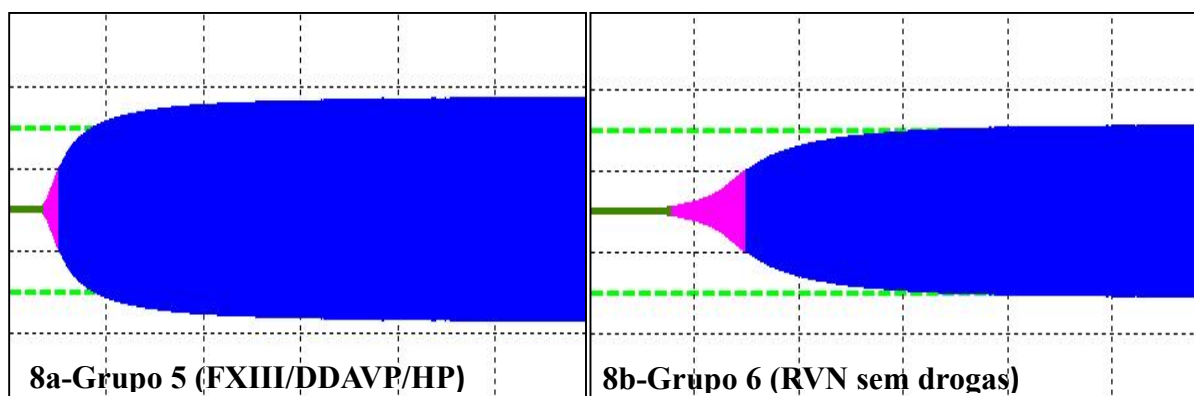


Figura 8 – Registro gráfico da TEM (amostras finais G5 e G6)

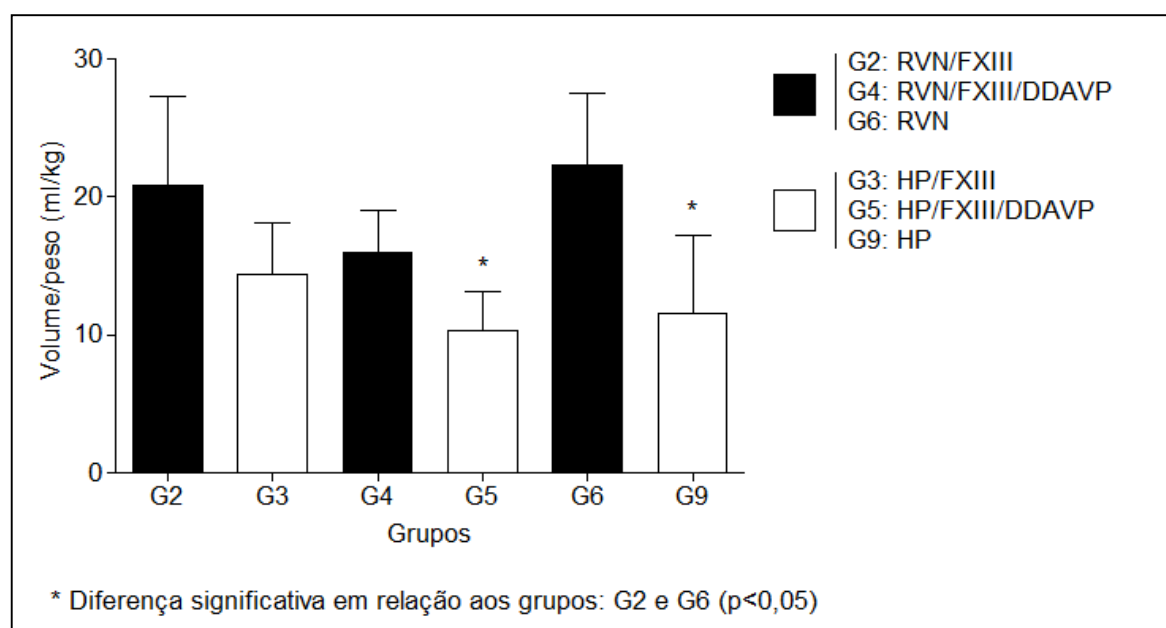
### 4.3 Sangramento abdominal

O volume de sangramento abdominal de cada grupo está representado na tabela 11.

A análise da Figura 9 nos atesta que os animais submetidos à hipotensão permissiva tiveram uma tendência a menor sangramento, com diferença estatística ao compararmos os grupos 5 e 9 com os grupos 2 e 6, respectivamente.

**Tabela 11 – Volume do sangramento abdominal por grupo (ml)**

	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 9
Mínimo	14,53	10,49	11,6	6,09	12,95	3,76
Máximo	31,17	20,16	19,97	14,14	27,4	19,14
Média	20,84	14,41	15,98	10,27	22,29	11,50
Mediana	19,37	13,3	16,42	10,76	23,34	12,88



**Figura 9 – Volume de sangramento abdominal por grupo**



#### 4.4 Volume infundido

Os animais dos grupos 2,4 e 6 (RVN) receberam respectivamente um volume médio de cristaloides de 205,9 ml/kg, 213,3 ml/kg e 203,1 ml/kg.

Os animais dos grupos 3,5 e 9 (HP) receberam respectivamente um volume médio de cristaloides de 78,37 ml/kg, 66,74ml/kg e 82,14 ml/kg.

A Figura 10 mostra que os animais dos grupos submetidos à reanimação normotensiva receberam um volume significativamente maior de líquidos quando comparados aos animais submetidos à hipotensão permissiva.

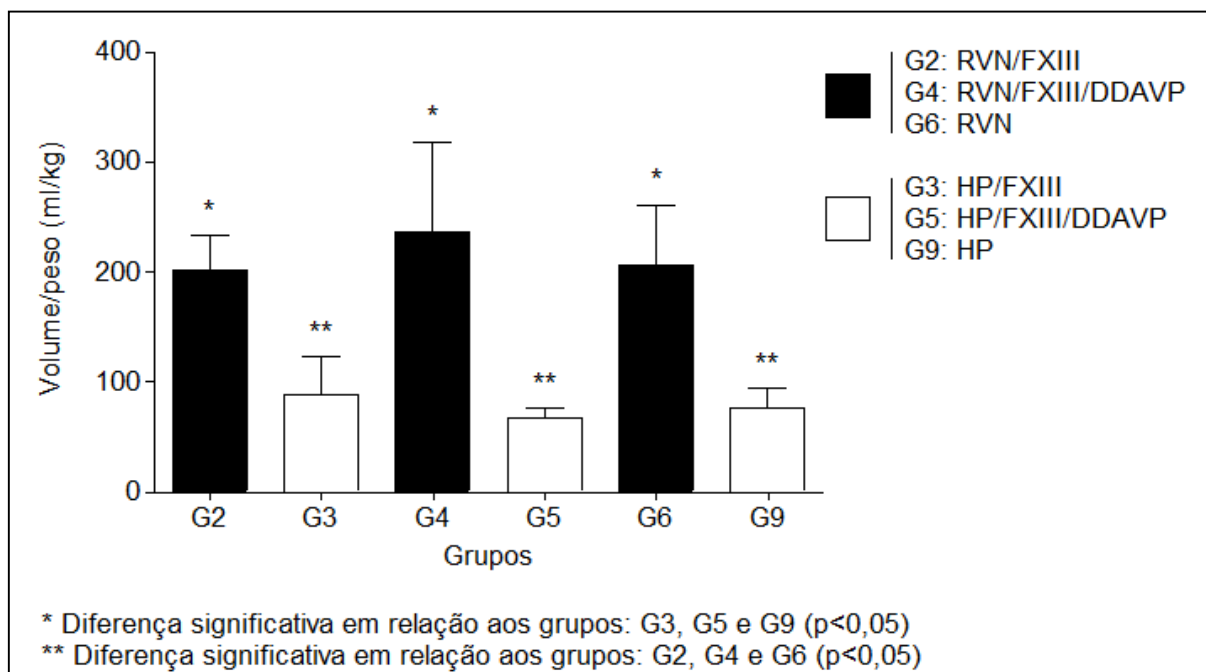


Figura 10 – Volume de líquido infundido por grupo

## 4.5 Pressão arterial média

A Figura 11 ilustra a medida da pressão arterial média (PAM) dos grupos ao longo de todo o experimento.

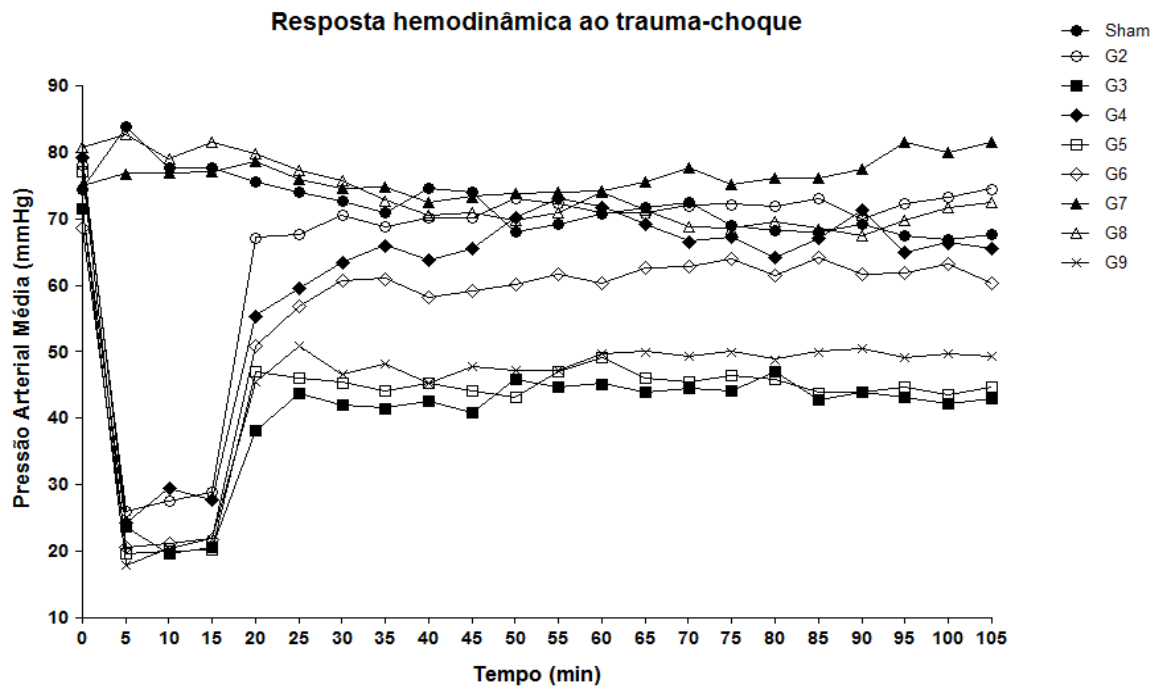


Figura 11 – Resposta hemodinâmica ao trauma-choque

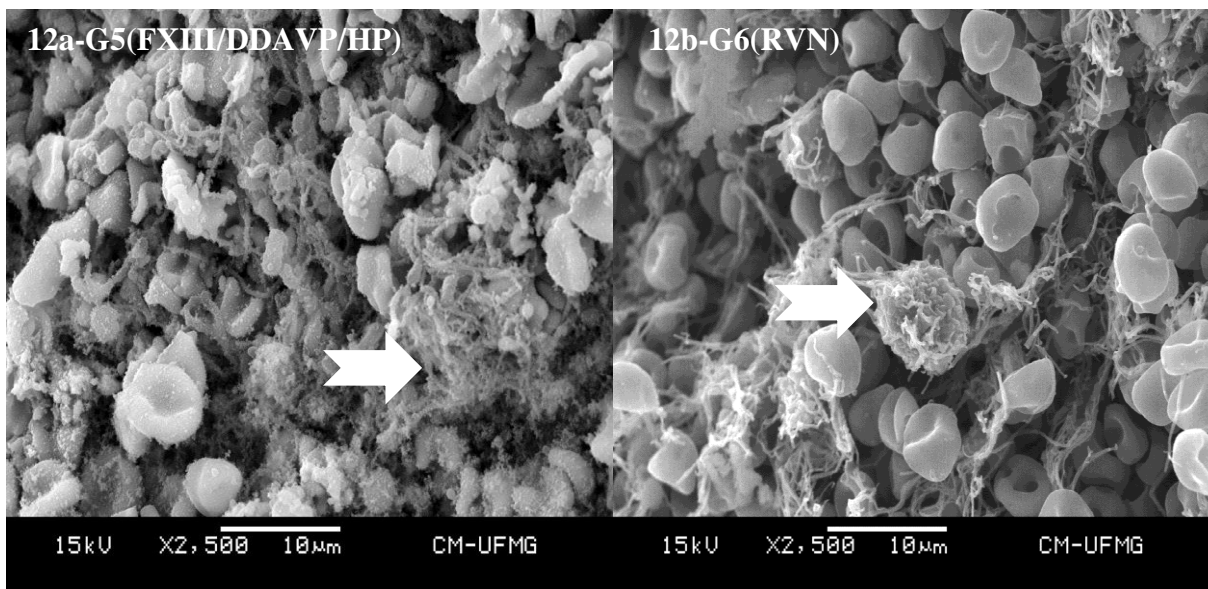
## 4.6 Mortalidade

Observou-se uma taxa de mortalidade de 10 animais entre 48 submetidos a choque hemorrágico (20,8%). Dentre os óbitos, 7 ocorreram antes do início da reanimação (15 minutos) sem os animais terem recebido nenhuma droga. Três óbitos ocorreram logo após o início da reanimação (antes de 25 minutos) nos grupos 2,4 e 6.

## 4.7 Microscopia eletrônica

Para fins ilustrativos, a figura 12 mostra fotos da microscopia eletrônica dos coágulos retirados da cavidade abdominal no sítio da lesão aórtica de animais dos grupos 5 e 6.

Observa-se que no G5 (Fig. 12a), houve formação de uma rede de fibrina (setas) mais densa quando comparado ao G6 (Fig. 12b).



*Figura 12 – Microscopia eletrônica do coágulo (rede de fibrina).*

## 5 *Discussão*

### 5.1 **Modelo animal**

Foi utilizado um modelo de choque com hemorragia não controlada previamente descrito, e que simula a reanimação na fase aguda (pré-hospitalar e sala de emergência) de um paciente vítima de trauma penetrante no tronco (86). Este modelo tenta reproduzir a sequência de eventos e os intervalos de tempo desde o momento do trauma até antes de o paciente ser levado ao bloco cirúrgico. O período de 15 minutos entre a punção da aorta e o início da reanimação reflete o tempo médio para o início do atendimento pré-hospitalar ou o deslocamento da vítima para o hospital. Este intervalo de tempo antes do início da reposição volêmica permite a formação do coágulo no vaso lesado, fato muito importante para a relevância clínica do modelo. A infusão de líquidos antes da formação do coágulo no sítio da lesão interfere nesta fase da coagulação e pode não representar o que ocorre com o paciente logo após o trauma (18). O equilíbrio entre a comparabilidade clínica, a padronização e a reprodutibilidade são fundamentais em modelo experimental válido (87).

A lesão da aorta foi padronizada a fim de reduzir possíveis variações do volume de sangramento. Entretanto, esta é uma das limitações dos modelos de hemorragia não controlada (88). A laparotomia, além de permitir o acesso para a punção da aorta, também provoca dano tecidual associado. Nos modelos de choque hemorrágico, o sangramento deve estar associado a este dano tecidual, pois estes dois fatores estão envolvidos na gênese da coagulopatia traumática aguda. Entretanto, faz-se necessário o desenvolvimento de modelos que representem melhor a sequência de eventos fisiopatológicos desta complicação (88–90).

Imediatamente após a lesão da aorta, a parede abdominal foi fechada, objetivando não haver interferências na hemostasia no local da lesão e permitindo que o efeito de tamponamento da parede abdominal auxilie na redução do sangramento, conforme ocorre no trauma abdominal.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pela mesma equipe, a fim de reduzir possíveis interferências relacionadas à técnica operatória.

A reposição volêmica dos animais realizou-se de acordo com as estratégias de reanimação mais frequentemente realizadas na prática clínica: reanimação normotensiva, com a infusão de grandes volumes de cristaloides para manter a PAM dentro da normalidade e a hipotensão

permissiva, com o objetivo de manter a PAM aproximadamente a 60% do valor basal. Os animais foram mantidos sobre colchões térmicos a fim de evitar hipotermia, variável não controlável, a qual interfere no mecanismo de coagulação.

O modelo utilizado tem limitações que devem ser consideradas nas interpretações dos resultados. Um problema presente na maioria dos estudos experimentais é o relacionado à anestesia. A associação de Cloridrato de Cetamina e Cloridrato de Xilazina tem discreto efeito sobre o sistema cardiovascular, e pode resultar em aumento transitório da PAM (91). A resposta à reanimação observada poderia ser diferente na ausência destas drogas (18). Os anestésicos também interferem na resposta inflamatória sistêmica desencadeada pelo trauma (89). Coelhos apresentam sistema de coagulação semelhante ao humano. Animais maiores, como por exemplo, porcos têm respostas hemodinâmicas e cardiovasculares mais similares aos seres humanos. Outra limitação do presente modelo experimental está relacionada ao tempo do experimento (105 minutos), o qual permite apenas avaliação da fase aguda do choque hemorrágico, não reproduzindo as complicações tardias do choque e da reanimação. Foram utilizados apenas machos no experimento o que pode interferir nos resultados, pois diferenças na resposta inflamatória relacionadas ao sexo poderiam ocorrer (92). Contudo, o uso de animais do gênero masculino traz mais uniformidade aos resultados porque elimina a variável sexo. A relevância de modelos experimentais para o estudo da coagulação e a extrapolação dos resultados para os seres humanos é limitada devido às diferenças dos perfis de coagulação entre as espécies. Ainda não se definiu qual modelo animal melhor reproduz o sistema de coagulação humano, especialmente quando utilizamos a tromboelastometria. Ao utilizarmos amostras de sangue de diferentes espécies analisadas pelo Rotem® demonstra-se que os valores mais próximos aos dos seres humanos é o das ovelhas na análise do CT, dos coelhos na análise do MCF e dos suínos nos parâmetros que avaliam a lise do coágulo. O melhor modelo animal para análises da TEM seriam, portanto, as ovelhas; os coelhos seriam mais adequados para o estudo das plaquetas e os suínos para avaliar a fibrinólise (93).

A mortalidade de 20,8% observada neste estudo está de acordo com a descrita no modelo original (86).

## 5.2 Análise descritiva

### 5.2.1 Tempo de coagulação – *clot time* (CT)

O CT é parâmetro que mede o intervalo de tempo entre o início do teste e a formação do coágulo e reflete o tempo gasto para a geração de fibrina e também a ativação dos fatores da coagulação. Na tabela 1 o único grupo que apresenta variação positiva é o G6, o que significa um valor final maior que o inicial, apontando um aumento do CT nas amostras finais deste grupo. Esta tendência observada no G6 pode ser explicada pelo fato de este grupo ter sido submetido à reanimação normotensiva e sem o uso de drogas pró-coagulantes. A elevação da pressão arterial às custas da infusão excessiva de cristaloides pode resultar em diluição dos fatores da coagulação presentes no plasma além de provocar hipotermia, com efeitos negativos sobre a coagulação. Outros fatores relacionados ao excesso de líquidos e que podem contribuir para aumento do sangramento e, agravar a coagulopatia, são a elevação da pressão arterial e o deslocamento do coágulo no sítio da lesão (19,30,40).

### 5.2.2 Força máxima do coágulo – *maximum clot firmness* (MCF):

O MCF é importante parâmetro da TEM, pois mede a força do coágulo gerado. Na análise descritiva (Tabela 2) observa-se que todos os animais submetidos a choque (G2 a G6 e G9) apresentaram valor negativo da variação do MCF, o que significa redução deste parâmetro (valor inicial > valor final) e conseqüentemente um coágulo mais fraco. Este achado pode estar relacionado aos efeitos negativos do choque sobre a coagulação, a qual, pode ser agravada pelo tipo de reanimação utilizada. A lesão tecidual associada ao choque é mecanismo capaz de induzir a alterações da coagulação, mesmo na ausência de fatores sabidamente relacionados à coagulopatia no trauma, como a acidose, a hipotermia e a reposição volêmica agressiva(7). Os animais do G1, G7 e G8 não foram submetidos a choque, o que poderia explicar a variação menos negativa no G1 (-4,6) e as variações positivas no G7 e G8. Além disso, os animais do G7 e G8 receberam FXIII e FXIII / DDAVP respectivamente, o que tende a melhorar a força do coágulo.

### 5.2.3 Ângulo alfa – (ALFA)

A tabela 3 mostra que todos os grupos submetidos a choque (G2 a G6 e G9) apresentaram aumento do ângulo nas análises das amostras finais. Considerando que este parâmetro da TEM avalia a cinética da formação do coágulo, pode-se considerar que a resposta inflamatória

desencadeada pela hemorragia está associada à ativação mais rápida da coagulação nestes animais. É importante considerar que a ativação mais rápida da coagulação não necessariamente resulta em coágulo mais resistente, como pode se verificar na análise do MCF. Exceção a esta tendência de variação positiva do ALFA nos grupos submetidos a choque ocorreu no G6 (-8,5). Isso pode ser explicado pela reanimação normotensiva sem o uso de DDAVP ou FXIII nos animais deste grupo. Os grupos 7 e 8, não foram submetidos a choque e também apontaram uma variação positiva deste parâmetro, porém o G7 recebeu FXIII e o G8 FXIII associado à DDAVP. Isto pode explicar porque estes grupos tiveram comportamento diferente do G1, que também não foi submetido a choque e teve variação negativa ou redução do ALFA.

#### 5.2.4 Tempo para a velocidade máxima – *maximum velocity time* (MAXVT)

Este parâmetro mede o tempo gasto para que a coagulação atinja a velocidade máxima, e está relacionado à cinética da formação do coágulo. Na análise da tabela 4, observa-se tendência de todos os grupos à redução deste tempo, uma vez que todos apresentaram variações negativas. Nos grupos submetidos a choque hemorrágico (G2 a G6 e G9), isto poderia ser explicado pelo estímulo do choque e da inflamação na ativação da coagulação. Entretanto, nos grupos não submetidos a choque (G1, G7 e G8), observou-se o mesmo efeito. Teorizamos que a manipulação do animal, os procedimentos de monitorização e a lapatoromia poderiam explicar esta redução no MAXVT, entretanto sem evidências destes fatos na literatura.

#### 5.2.5 Área sob a curva – *area under the curve* (AUC)

Este parâmetro mede a área sob a curva até o coágulo atingir a sua força máxima, portanto, tem relação direta com o MCF e avalia a interação entre as plaquetas e a rede de fibrina. A análise da tabela 5 mostra tendência semelhante à observada na tabela 2, com os grupos submetidos a choque (G2 a G6 e G9) apresentando variação negativa. Os animais não submetidos a choque apresentaram variação positiva deste parâmetro (G7 e G8) e G1 apresentou variação negativa menor. A variação negativa corresponde à redução da área sob a curva e é interpretada como coagulação menos eficaz. As possíveis explicações para esta tendência estão relacionadas aos efeitos negativos da hemorragia e do choque sobre a coagulação (7,20,24,94).

### 5.3 Análise comparativa

Para a realização da TEM existem diversas técnicas e vários tipos de reagentes, sendo assim, os resultados devem ser interpretados levando-se em conta essas diferenças. Entre os principais fatores que devem ser considerados na análise das amostras podemos citar: tipo de equipamento utilizado (TEG® X ROTEM®), ativadores ou inibidores adicionados à amostra e o tempo entre a coleta do sangue e a realização do exame. A utilização de sangue anticoagulado com citrato resulta em parâmetros diferentes daqueles obtidos com amostras de sangue sem anticoagulante e ao se utilizar o citrato, recomenda-se um tempo de espera de cerca de 30 minutos antes do início do exame. Por este motivo, em pacientes traumatizados, o sangue sem anticoagulante é mais frequentemente utilizado (74,79).

Para a análise dos parâmetros da TEM foram utilizadas as medianas, considerando-se que os valores não apresentaram distribuição Gaussiana entre os grupos. Foi feita, então, comparação pareada entre os animais, considerando a variação entre as medidas da TEM iniciais e finais de cada grupo. A variação destas medidas constitui parâmetro confiável de como as intervenções realizadas na reanimação interferiram na coagulação dos grupos, sendo que cada animal serviu de controle para ele mesmo (95).

As diferenças encontradas entre os grupos podem ser explicadas pela estratégia de reanimação utilizada. Ao se comparar G1 e G8, observa-se que no G8 houve redução do CT e do MAXVT. Como nenhum dos animais destes grupos foi submetido a choque hemorrágico, esta diferença se deve à utilização do FXIII e DDAVP no G8 e à ausência de drogas pró-coagulantes no G1. Entretanto, não se observaram diferenças em nenhum parâmetro do Rotem® entre G1 e G7. Este dado constitui evidência de que o FXIII tem ação pró-coagulante mais efetiva na presença de DDAVP, pelo fato deste, aumentar a geração de trombina, que por sua vez irá promover a ativação do FXIII em FXIIIa (96). Além desses efeitos, a trombina quebra o fibrinopeptídeo A das cadeias  $\alpha$  do fibrinogênio e favorece a polimerização da fibrina (56). Estas interações entre o FXIII e a trombina fazem com que seus efeitos pró-coagulantes sejam mais efetivos quando associado à DDAVP.

De forma semelhante, há outras evidências que sugerem que o FXIII utilizado isoladamente é menos efetivo. Estudo que avaliou a reposição *in vitro* de FXIII em amostras de sangue diluídas com diferentes soluções (cristaloides, gelatina, coloides e albumina) para simular uma coagulopatia dilucional, só mostrou benefícios do FXIII sobre a coagulação quando este foi



administrado em associação ao fibrinogênio. O FXIII isoladamente não alterou os parâmetros da TEM (97).

Outros estudos avaliaram os efeitos do FXIII em amostras de plasma *in vitro* e demonstraram que houve melhora da iniciação e da cinética da coagulação (CT e ALFA) e da força do coágulo (MCF) após a administração de FXIII (57,58). Entretanto, uma grande limitação destes trabalhos é que nas amostras de plasma *in vitro*, a interação das plaquetas com a rede de fibrina não é avaliada. Além disso, estes resultados não podem ser comparados ao modelo de choque utilizado no presente estudo.

Houve redução do CT e do MAXVT do G2 em relação ao G6. A única diferença entre estes grupos foi o uso de FXIII nos animais do G2, sugerindo que esta droga potencializou a velocidade de formação do coágulo, embora não sua qualidade ou força.

Na comparação entre o G3 e o G9, não houve diferença significativa entre os parâmetros da TEM, apesar dos animais do G3 receberem FXIII. É possível que nesses dois grupos a hipotensão permissiva tenha atuado no sentido de otimizar os parâmetros de coagulação e desta forma, minimizou os possíveis benefícios do FXIII no G3. Outro fator que poderia explicar a ausência de diferença entre estes grupos é que o efeito do FXIII sobre a coagulação mostra-se mais efetivo associado à DDAVP do que quando administrado isoladamente (96).

Quando comparado ao G6, no G3 observou-se redução do CT e aumento do ALFA. Estas diferenças podem ser explicadas pela HP utilizada em G3 numa associação com o uso do FXIII. Apesar destas diferenças nos parâmetros da TEM, não houve diferenças no volume do sangramento abdominal entre estes grupos.

No G9 observou-se aumento do ALFA em relação ao G6. Como nenhum destes grupos recebeu drogas, a HP utilizada pode ter protegido a função de coagulação no G9, que apresentou menor sangramento abdominal.

Houve redução do CT e do MAXVT e aumento do ALFA nos animais do G5 quando comparados aos do G6. Esta foi a única comparação que apresentou diferenças em três parâmetros da TEM. Esse dado pode explicar o menor volume de sangramento abdominal observado nos animais do G5, quando comparados ao G6. Os resultados da TEM sugerem melhoras na iniciação (CT e MAXVT) e na força (ALFA) do coágulo. No G5, além da HP, foi utilizado FXIII e DDAVP, enquanto no G6 não foram utilizadas drogas, tendo sido infundida maior

quantidade de cristaloides. Provavelmente no G5 os efeitos positivos da HP se somem aos efeitos pró-coagulantes do FXIII e da DDAVP (16,35,39,41,56,65).

Houve aumento da AUC do G5 em relação ao G2. Esta explicação deve-se à HP em G5, associada ao FXIII e DDAVP. Assim como no G6, no G2 foi utilizada reanimação normotensiva, porém, no G2 foi associada à administração de FXIII, o que pode explicar que, quando comparados ao G5, G6 revelou piora da coagulação em três parâmetros e na comparação entre os grupos 2 e 5, G2 piorou a coagulação em um parâmetro apenas. Mais uma vez a associação da HP, FXIII e DDAVP foi capaz de melhorar a qualidade do coágulo.

Ao se analisar de forma global os resultados da TEM, observa-se que todos os grupos que foram submetidos a algum tipo de reanimação (G2, G3, G4, G5 e G9) apresentaram melhora da coagulação em pelo menos um dos parâmetros quando comparados ao G6. Neste grupo os animais foram reanimados com cristaloides objetivando normalizar a pressão arterial, consequentemente receberam um maior volume de líquidos infundidos. O excesso de líquidos provoca diluição dos fatores da coagulação presentes no plasma, resultando em possível coagulopatia dilucional. Além disso, o aumento de pressão arterial aumenta a taxa de sangramento no sítio da lesão (19, 30).

Vários estudos que avaliaram estratégias de reposição volêmica em modelos animais, também demonstraram que a reanimação volêmica agressiva está associada a um aumento da hemorragia. Estudo com um modelo canino de hemorragia não controlada evidenciou que o aumento de volume infundido estava associado a um aumento do sangramento (33). Outro estudo em um modelo suíno concluiu que a restauração rápida da pressão arterial através da infusão de cristaloides resultou em aumento da hemorragia e da mortalidade (34). A infusão de volume mais criteriosa reduziu a mortalidade quando comparada a animais que receberam quantidades maiores de líquidos (35). Outros estudos, de forma independente e utilizando um modelo de choque hemorrágico não controlado em ovelhas, encontraram uma relação direta entre o volume infundido e o nível de aumento da pressão arterial, em meio à ocorrência de efeitos adversos e aumento da mortalidade (36, 37).

Revisão sistemática envolvendo 52 estudos experimentais e 2039 animais demonstrou em modelos de choque com hemorragias mais graves (lesões da aorta ou secções de mais de 50% da cauda) que a infusão de líquidos reduziu o risco de morte quando comparada à ausência desta infusão. Nos modelos com hemorragias menos graves (lesões de outros vasos que não a aorta ou secções menores que 50% da cauda) a infusão de líquidos fez aumentar a mortalidade.

Nestes animais, os potenciais riscos associados à infusão de líquidos parecem superar os possíveis benefícios do aumento da pressão arterial e da perfusão dos tecidos. Nove desses trabalhos compararam a hipotensão permissiva à reposição volêmica normotensiva. Em todos eles, a hipotensão permissiva reduziu o risco de morte (98).

Modelo suíno submetido a lesões por explosões apontou que a hipotensão permissiva está associada a maior mortalidade quando comparada à reanimação normotensiva (99).

Estudo em modelo de choque não controlado em ratos, demonstrou que a administração excessiva de Ringer Lactato estava associada à piora dos parâmetros de coagulação e aumento significativo do sangramento. Ainda neste estudo, valores mais elevados de hematócrito se correlacionaram com melhores índices de coagulação (100).

Estudo clínico retrospectivo, no qual a administração de mais de 3 litros de cristaloides ou 500 ml. de coloides durante cirurgias abdominais, estiveram associados a ocorrência de coagulopatia no pós-operatório, corrobora essa hipótese (101).

Outros mecanismos que podem explicar o pior perfil de coagulação do G6 demonstrados pela TEM são a redução da velocidade de formação da fibrina, níveis menores de trombina e diminuição da concentração e atividade dos fatores da coagulação. A geração de trombina é muito sensível à variação da concentração dos fatores de coagulação. Em modelo de plasma sintético, alterações na concentração das proteínas envolvidas na coagulação causaram variações de até 30 vezes na taxa de geração de trombina (102).

Os efeitos do FXIII e da DDAVP podem ainda ser notados ao se comparar os grupos 2, 4 e 6. Nos G2 e G4, igualmente submetidos à RVN, a infusão de FXIII (G2) e FXIII / DDAVP (G4) foi capaz de neutralizar, pelo menos em parte, os efeitos deletérios da reanimação normotensiva. No G2 observou-se redução do CT e MAXVT em relação ao G6 e no G4 aumento do ALFA em relação ao G6. (Tabelas 6, 8 e 9)

Da mesma forma, na comparação entre o G2 e o G3 não houve diferenças em nenhum dos parâmetros avaliados, assim como na comparação entre os grupos 4 e 5. Mais uma vez, os efeitos deletérios da RVN foram minimizados ou anulados pelo uso das drogas pró-coagulantes.

Ao se analisar os grupos reanimados com HP (G3, G5 e G9) não foram encontradas diferenças entre nenhum dos parâmetros da TEM. A explicação para este fato pode se encontrar no tipo de reanimação volêmica utilizada nestes grupos: a hipotensão permissiva. Pode-se considerar que o simples fato de não infundir um grande volume de cristaloides, já proporciona

uma otimização da coagulação. Desta forma, ao se administrar FXIII (G3) e FXIII/DDAVP (G5), não se observou nenhum ganho em relação ao G9 (HP sem drogas) na análise da TEM. Outra possibilidade é destes ganhos serem tão pequenos, que a amostra não tem poder para evidenciá-los.

A análise comparativa dos parâmetros da TEM entre os grupos demonstra que a reanimação normotensiva isolada (G6) foi a pior estratégia de reanimação, o que tem grande importância prática, pois a reanimação volêmica com doses elevadas de soluções cristaloides ainda é frequentemente utilizada em nosso meio.

## 5.4 Sangramento abdominal

A avaliação do volume do sangramento abdominal tem o objetivo de estabelecer correlação entre as estratégias de reanimação utilizadas e o efeito prático (desfecho clínico) destas intervenções.

Apesar da pesagem das gazes não ser um método preciso, esta medida proporcionou estimativa da perda sanguínea por hemorragia.

Os animais do G2 sangraram mais que os dos grupos 5 e 9, o mesmo acontecendo com os animais do G6. (Figura 9)

Estes resultados sugerem que HP é o fator com maior influência no volume de sangramento abdominal, uma vez que apenas foi observada redução do sangramento (desfecho clínico) em grupos submetidos a esta estratégia de reanimação (G5 e G9). Outro achado que reforça esta hipótese é que os animais do G9 sangraram menos que os do G2, apesar dos animais do G2 terem recebido FXIII. A explicação para este menor volume de sangramento é a utilização da HP como estratégia de reanimação volêmica, pois a infusão rápida de grande volume de cristaloides provoca o deslocamento de coágulos aderidos no sítio de lesão vascular, retirando o tampão inicial formado por plaquetas e fibrina (coagulação primária) e favorecendo o ressangramento (4).

Esta hipótese é corroborada por estudo em modelo suíno de choque não controlado que comparou diferentes estratégias de reanimação volêmica utilizando solução salina isotônica e hipertônica, coloides e um grupo que não recebeu nenhum volume. Os animais que não receberam reposição volêmica apresentaram os melhores parâmetros de coagulação (TEM, TP, RNI e fibrinogênio) e menor sangramento abdominal (103).

Não houve diferença no volume de sangramento abdominal entre os grupos 5 e 9 quando comparados ao G4. Uma possível explicação para este achado é o uso do FXIII associado à DDAVP no G4. Os efeitos pró-coagulantes do FXIII associado à DDAVP foram capazes de minimizar a ação negativa da reanimação normotensiva sobre a coagulação no G4. Isto não ocorreu no G2, pelo fato do FXIII ter sido usado isoladamente neste grupo. O melhor efeito do FXIII observa-se quando administrado em associação com a DDAVP (96). Não houve diferença significativa do volume de sangramento abdominal entre os grupos submetidos à RVN (G2, G4 e G6).

O grupo com menor volume de sangramento abdominal foi o G5, porém com diferença apenas em relação ao G2 e ao G6. Isto pode ser explicado pelo fato de G5 ter sido reanimado com HP associada ao uso de FXIII e DDAVP e, desta forma, os benefícios da HP em relação à coagulação somam-se aos efeitos pró-coagulantes das drogas. Além disso, G2 e G6 são potencialmente os dois piores grupos em relação à qualidade da hemostasia, possivelmente porque receberam RVN, sem drogas no G6 e associada apenas ao FXIII no G2.

O G3 foi o único entre os grupos submetidos à HP no qual não se observou redução significativa no volume do sangramento abdominal.

Os dados parecem indicar benefícios da HP sobre a coagulação, devido à redução dos efeitos mecânicos e dilucionais associados à reposição volêmica com excesso de cristaloides (30,31,40,99). Outro mecanismo que pode explicar o impacto positivo da HP sobre a coagulação está relacionado à fibrinólise. A hemodiluição com redução da atividade dos fatores da coagulação provocados pelo excesso de cristaloides, induz a um estado de hiperfibrinólise, provocado pela redução da atividade de enzimas antifibrinolíticas ( $\alpha$ 2 antiplasmina e TAFI). O uso de plasma fresco congelado reverte este estado pró-fibrinolítico (104).

## **6 Conclusões**

A reanimação volêmica normotensiva sem o uso de nenhuma droga pró-coagulante constituiu a pior estratégia de reanimação e compromete a coagulação.

A hipotensão permissiva é a intervenção com melhor efeito sobre a coagulação.

O FXIII utilizado isoladamente no tratamento do choque hemorrágico melhora a coagulação e seu efeito é otimizado pela DDAVP.

A administração simultânea de FXIII e DDAVP protege contra os efeitos deletérios da reanimação normotensiva.

A reanimação com hipotensão permissiva reduz o sangramento abdominal quando comparada à reanimação normotensiva, independentemente do uso de FXIII e DDAVP.

---

## Referências

1. Geeraedts LM Jr, Kaasjager HA, van Vugt AB, Frölke JP. Exsanguination in trauma: a review of diagnostics and treatment options. *Injury*. 2009; 40(1):11-20.
2. Kauvar DS, Lefering R, Wade CE. Impact of hemorrhage on trauma outcome: an overview of epidemiology, clinical presentations, and therapeutic considerations. *J Trauma*. 2006; 60(6 Suppl):S3-11.
3. American College of Surgeons. *Advanced trauma life support course*. 7<sup>th</sup> ed. Chicago: ACS; 2001.
4. Sondeen JL, Coppes VG, Holcomb JB. Blood pressure at which rebleeding occurs after resuscitation in swine with aortic injury. *J Trauma*. 2003; 54(5 Suppl):S110-7.
5. Duchesne JC, McSwain NE Jr, Cotton BA, Hunt JP, Dellavolpe J, Lafaro K, *et al*. Damage control resuscitation: the new face of damage control. *J Trauma*. 2010; 69(4):976-90.
6. Spinella PC, Holcomb JB. Resuscitation and transfusion principles for traumatic hemorrhagic shock. *Blood Rev*. 2009; 23(6):231-40.
7. Brohi K, Singh J, Heron M, Coats T. Acute traumatic coagulopathy. *J Trauma*. 2003; 54(6):1127-30.
8. Davenport R. Pathogenesis of acute traumatic coagulopathy. *Transfusion*. 2013; 53 Suppl 1:23S-27S.
9. Ward KR. The microcirculation: linking trauma and coagulopathy. *Transfusion*. 2013; 53 Suppl 1:38S-47S.
10. Holcomb JB, Jenkins D, Rhee P, Johannigman J, Mahoney P, Mehta S, *et al*. Damage control resuscitation: directly addressing the early coagulopathy of trauma. *J Trauma*. 2007; 62(2):307-10.
11. Kobayashi L, Costantini TW, Coimbra R. Hypovolemic shock resuscitation. *Surg Clin North Am*. 2012; 92(6):1403-23.
12. Fraga GP, Bansal V, Coimbra R. Transfusion of blood products in trauma: an update. *J Emerg Med*. 2010; 39(2):253-60.
13. Santry HP, Alam HB. Fluid resuscitation: past, present, and the future. *Shock*. 2010; 33(3):229-41.

14. Curry N, Davis PW. What's new in resuscitation strategies for the patient with multiple trauma? *Injury*. 2012; 43(7):1021-8.
15. Alam HB, Velmahos GC. New trends in resuscitation. *Curr Probl Surg*. 2011; 48(8):531-64.
16. Kaufmann JE, Vischer UM. Cellular mechanisms of the hemostatic effects of desmopressin (DDAVP). *J Thromb Haemost*. 2003; 1(4):682-9.
17. Muszbek L, Bereczky Z, Bagoly Z, Komáromi I, Katona É. Factor XIII: a coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. *Physiol Rev*. 2011; 91(3):931-72.
18. Rezende-Neto JB, Rizoli SB, Andrade MV, Ribeiro DD, Lisboa TA, Camargos ER, *et al*. Permissive hypotension and desmopressin enhance clot formation. *J Trauma*. 2010; 68(1):42-51.
19. Kashuk JL, Moore EE, Sawyer M, Le T, Johnson J, Biffl WL, *et al*. Postinjury coagulopathy management: goal directed resuscitation via POC thrombelastography. *Ann Surg*. 2010; 251(4):604-14.
20. Kim SJ, Lee SW, Han GS, Moon SW, Choi SH, Hong YS. Acute traumatic coagulopathy decreased actual survival rate when compared with predicted survival rate in severe trauma. *Emerg Med J*. 2012; 29(11):906-10.
21. Mitra B, Cameron PA, Mori A, Fitzgerald M. Acute coagulopathy and early deaths post major trauma. *Injury*. 2012; 43(1):22-5.
22. Floccard B, Rugeri L, Faure A, Saint Denis M, Boyle EM, Peguet O, *et al*. Early coagulopathy in trauma patients: an on-scene and hospital admission study. *Injury*. 2012; 43(1):26-32.
23. Cohen MJ, Call M, Nelson M, Calfee CS, Esmon CT, Brohi K, *et al*. Critical role of activated protein C in early coagulopathy and later organ failure, infection and death in trauma patients. *Ann Surg*. 2012; 255(2):379-85.
24. Cohen MJ, Kutcher M, Redick B, Nelson M, Call M, PROMMTT Study Group. Clinical and mechanistic drivers of acute traumatic coagulopathy. *J Trauma Acute Care Surg*. 2013; 75(1 Suppl 1):S40-7.
25. Rizoli SB, Scarpelini S, Callum J, Nascimento B, Mann KG, Pinto R, *et al*. Clotting factor deficiency in early trauma-associated coagulopathy. *J Trauma*. 2011; 71(5 Suppl 1):S427-34.
26. Kashuk JL, Moore EE, Sawyer M, Wohlauer M, Pezold M, Barnett C, *et al*. Primary fibrinolysis is integral in the pathogenesis of the acute coagulopathy of trauma. *Ann Surg*. 2010; 252(3):434-44.



27. Shires T, Coln D, Carrico J, Lightfoot S. Fluid therapy in hemorrhagic shock. *Arch Surg.* 1964; 88:688-93.
28. Shoemaker WC, Appel PL, Kram HB, Waxman K, Lee TS. Prospective trial of supranormal values of survivors as therapeutic goals in high-risk surgical patients. *Chest.* 1988; 94(6):1176-86.
29. Cotton BA, Guy JS, Morris JA Jr, Abumrad NN. The cellular, metabolic, and systemic consequences of aggressive fluid resuscitation strategies. *Shock.* 2006; 26(2):115-21.
30. Theusinger OM, Madjdpour C, Spahn DR. Resuscitation and transfusion management in trauma patients: emerging concepts [published erratum appears in *Curr Opin Crit Care.* 2013; 19(1):74]. *Curr Opin Crit Care.* 2012; 18(6):661-70.
31. Ertmer C, Kampmeier T, Rehberg S, Lange M. Fluid resuscitation in multiple trauma patients. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2011; 24(2):202-8.
32. Cannon WB, Fraser J, Cowel EM. The preventive treatment of wound shock. *JAMA.* 1918; 70(9):618-21.
33. Shaftan GW, Chiu CJ, Dennis C, Harris B. Fundamentals of physiologic control of arterial hemorrhage. *Surgery.* 1965; 58(5):851-6.
34. Stern SA, Dronen SC, Birrer P, Wang X. Effect of blood pressure on hemorrhage volume and survival in a near-fatal hemorrhage model incorporating a vascular injury. *Ann Emerg Med.* 1993; 22(2):155-63.
35. Capone AC, Safar P, Stezoski W, Tisherman S, Peitzman AB. Improved outcome with fluid restriction in treatment of uncontrolled hemorrhagic shock. *J Am Coll Surg.* 1995; 180(1):49-56.
36. Krausz MM, Bashenko Y, Hirsh M. Crystalloid and colloid resuscitation of uncontrolled hemorrhagic shock following massive splenic injury. *Shock.* 2001; 16(5):383-8.
37. Solomonov E, Hirsh M, Yahiya A, Krausz MM. The effect of vigorous fluid resuscitation in uncontrolled hemorrhagic shock after massive splenic injury. *Crit Care Med.* 2000; 28(3):749-54.
38. Bickell WH, Wall MJ Jr, Pepe PE, Martin RR, Ginger VF, Allen MK, *et al.* Immediate versus delayed fluid resuscitation for hypotensive patients with penetrating torso injuries. *N Engl J Med.* 1994; 331(17):1105-9.
39. Dutton RP, Mackenzie CF, Scalea TM. Hypotensive resuscitation during active hemorrhage: impact on in-hospital mortality. *J Trauma.* 2002; 52(6):1141-6.

- 
40. Kasotakis G, Sideris A, Yang Y, de Moya M, Alam H, Inflammation and Host Response to Injury Investigators. Aggressive early crystalloid resuscitation adversely affects outcomes in adult blunt trauma patients: an analysis of the Glue Grant database. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013; 74(5):1215-22.
  41. Morrison CA, Carrick MM, Norman MA, Scott BG, Welsh FJ, Tsai P, *et al.* Hypotensive resuscitation strategy reduces transfusion requirements and severe postoperative coagulopathy in trauma patients with hemorrhagic shock: preliminary results of a randomized controlled trial. *J Trauma.* 2011; 70(3):652-63.
  42. Chesnut RM, Marshall SB, Piek J, Blunt BA, Klauber MR, Marshall LF. Early and late systemic hypotension as a frequent and fundamental source of cerebral ischemia following severe brain injury in the Traumatic Coma Data Bank. *Acta Neurochir Suppl (Wien).* 1993; 59:121-5.
  43. Rosner MJ, Daughton S. Cerebral perfusion pressure management in head injury. *J Trauma.* 1990; 30(8):933-41.
  44. Schmidt BM, Rezende-Neto JB, Andrade MV, Winter PC, Carvalho MG Jr, Lisboa TA, *et al.* Permissive hypotension does not reduce regional organ perfusion compared to normotensive resuscitation: animal study with fluorescent microspheres. *World J Emerg Surg.* 2012; 7 Suppl 1:S9.
  45. American College of Surgeons. *Advanced trauma life support course.* 9<sup>th</sup> ed. Chicago: ACS; 2012.
  46. Laki K, Lóránd L. On the solubility of fibrin clots. *Science.* 1948; 108(2802):280.
  47. Duckert F, Jung E, Shmerling DH. A hitherto undescribed congenital haemorrhagic diathesis probably due to fibrin stabilizing factor deficiency. *Thromb Diath Haemorrh.* 1960; 5:179-86.
  48. Mosesson MW, Siebenlist KR, Hernandez I, Lee KN, Christiansen VJ, McKee PA. Evidence that alpha2-antiplasmin becomes covalently ligated to plasma fibrinogen in the circulation: a new role for plasma factor XIII in fibrinolysis regulation. *J Thromb Haemost.* 2008; 6(9):1565-70.
  49. Levy JH, Greenberg C. Biology of Factor XIII and clinical manifestations of Factor XIII deficiency. *Transfusion.* 2013; 53(5):1120-31.
  50. Bagoly Z, Koncz Z, Hársfalvi J, Muszbek L. Factor XIII, clot structure, thrombosis. *Thromb Res.* 2012; 129(3):382-7.
  51. Ichinose A. Factor XIII is a key molecule at the intersection of coagulation and fibrinolysis as well as inflammation and infection control. *Int J Hematol.* 2012; 95(4):362-70.
  52. Hsieh L, Nugent D. Factor XIII deficiency. *Haemophilia.* 2008; 14(6):1190-200.

53. Tosetto A, Castaman G, Rodeghiero F. Acquired plasma factor XIII deficiencies. *Haematologica*. 1993; 78(6 Suppl 2):5-10.
54. Jennings I, Kitchen S, Woods TA, Preston FE, UK NEQAS. Problems relating to the laboratory diagnosis of factor XIII deficiency: a UK NEQAS study. *J Thromb Haemost*. 2003; 1(12):2603-8.
55. Katona É, Péntzes K, Molnár É, Muszbek L. Measurement of factor XIII activity in plasma. *Clin Chem Lab Med*. 2012; 50(7):1191-202.
56. Jámbor C, Reul V, Schnider TW, Degiacomi P, Metzner H, Korte WC. In vitro inhibition of factor XIII retards clot formation, reduces clot firmness, and increases fibrinolytic effects in whole blood. *Anesth Analg*. 2009; 109(4):1023-8.
57. Nielsen VG, Gurley WQ, Burch TM. The impact of factor XIII on coagulation kinetics and clot strength determined by thrombelastography. *Anesth Analg*. 2004; 99(1):120-3.
58. Theusinger OM, Baulig W, Asmis LM, Seifert B, Spahn DR. In vitro factor XIII supplementation increases clot firmness in Rotation Thromboelastometry (ROTEM). *Thromb Haemost*. 2010; 104(2):385-91.
59. Nielsen VG, Kirklin JK, Hoogendoorn H, Ellis TC, Holman WL. Thrombelastographic method to quantify the contribution of factor XIII to coagulation kinetics. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2007; 18(2):145-50.
60. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. 1-Deamino-8-d-arginine vasopressin: a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrands' diseases. *Lancet*. 1977; 1(8017):869-72.
61. Mannucci PM. Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders: the first twenty years [published erratum appears in *Haemophilia* 2000; 6(5):595]. *Haemophilia*. 2000; 6 Suppl 1:60-7.
62. Sakariassen KS, Cattaneo M, vd Berg A, Ruggeri ZM, Mannucci PM, Sixma JJ. DDAVP enhances platelet adherence and platelet aggregate growth on human artery subendothelium. *Blood*. 1984; 64(1):229-36.
63. Franchini M. The use of desmopressin as a hemostatic agent: a concise review. *Am J Hematol*. 2007; 82(8):731-5.
64. Flordal PA. Use of desmopressin to prevent bleeding in surgery. *Eur J Surg*. 1998; 164(1):5-11.
65. Kobrinsky NL, Israels ED, Gerrard JM, Cheang MS, Watson CM, Bishop AJ, et al. Shortening of bleeding time by 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in various bleeding disorders. *Lancet*. 1984; 1(8387):1145-8.

66. Salzman EW, Weinstein MJ, Weintraub RM, Ware JA, Thurer RL, Robertson L, *et al.* Treatment with desmopressin acetate to reduce blood loss after cardiac surgery: a double-blind randomized trial. *N Engl J Med.* 1986; 314(22):1402-6.
67. Mongan PD, Hosking MP. The role of desmopressin acetate in patients undergoing coronary artery bypass surgery. A controlled clinical trial with thromboelastographic risk stratification. *Anesthesiology.* 1992; 77(1):38-46.
68. Cattaneo M, Harris AS, Strömberg U, Mannucci PM. The effect of desmopressin on reducing blood loss in cardiac surgery: a meta-analysis of double-blind, placebo-controlled trials. *Thromb Haemost.* 1995; 74(4):1064-70.
69. Crescenzi G, Landoni G, Biondi-Zoccai G, Pappalardo F, Nuzzi M, Bignami E, *et al.* Desmopressin reduces transfusion needs after surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Anesthesiology.* 2008; 109(6):1063-76.
70. Coppola A, Di Minno G. Desmopressin in inherited disorders of platelet function. *Haemophilia.* 2008; 14 Suppl 1:31-9.
71. Ryan KL, Cortez DS, Dick EJ Jr, Pusateri AE. Efficacy of FDA-approved hemostatic drugs to improve survival and reduce bleeding in rat models of uncontrolled hemorrhage. *Resuscitation.* 2006; 70(1):133-44.
72. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der thrombelastographie, einem neuen untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr.* 1948; 26(37-38):577-83.
73. Reikvam H, Steien E, Hauge B, Liseth K, Hagen KG, Størkson R, *et al.* Thrombelastography. *Transfus Apher Sci.* 2009; 40(2):119-23.
74. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol.* 2005; 27(2):81-90.
75. David JS, Godier A, Dargaud Y, Inaba K. Case scenario: management of trauma-induced coagulopathy in a severe blunt trauma patient. *Anesthesiology.* 2013; 119(1):191-200.
76. Ranucci M, Baryshnikova E, Colella D. Monitoring prohemostatic treatment in bleeding patients. *Semin Thromb Hemost.* 2012; 38(3):282-91.
77. Johansson PI, Stissing T, Bochsén L, Ostrowski SR. Thrombelastography and thromboelastometry in assessing coagulopathy in trauma. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2009 Sept 23; 17:45.
78. CRASH-2 trial collaborators, Shakur H, Roberts I, Bautista R, Caballero J, Coats T, *et al.* Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomized, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2010; 376(9734):23-32.

- 
79. Da Luz LT, Nascimento B, Rizoli S. Thrombelastography (TEG®): practical considerations on its clinical use in trauma resuscitation. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2013 Apr 16; 21:29.
  80. Holcomb JB, Minei KM, Scerbo ML, Radwan ZA, Wade CE, Kozar RA, *et al.* Admission rapid thrombelastography can replace conventional coagulation tests in the emergency department: experience with 1974 consecutive trauma patients. *Ann Surg.* 2012; 256(3):476-86.
  81. Tapia NM, Chang A, Norman M, Welsh F, Scott B, Wall MJ Jr, *et al.* TEG-guided resuscitation is superior to standardized MTP resuscitation in massively transfused penetrating trauma patients. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013; 74(2):378-86.
  82. Cotton BA, Faz G, Hatch QM, Radwan ZA, Podbielski J, Wade C, *et al.* Rapid thrombelastography delivers real-time results that predict transfusion within 1 hour of admission. *J Trauma.* 2011; 71(2):407-17.
  83. Leemann H, Lustenberger T, Talving P, Kobayashi L, Bukur M, Brenni M, *et al.* The role of rotation thromboelastometry in early prediction of massive transfusion. *J Trauma.* 2010; 69(6):1403-9.
  84. Plotkin AJ, Wade CE, Jenkins DH, Smith KA, Noe JC, Park MS, *et al.* A reduction in clot formation rate and strength assessed by thrombelastography is indicative of transfusion requirements in patients with penetrating injuries. *J Trauma.* 2008; 64(2 Suppl):S64-8.
  85. Tauber H, Innerhofer P, Breitkopf R, Westermann I, Beer R, El Attal R, *et al.* Prevalence and impact of abnormal ROTEM(R) assays in severe blunt trauma: results of the 'Diagnosis and Treatment of Trauma-Induced Coagulopathy (DIA-TRE-TIC) study'. *Br J Anaesth.* 2011; 107(3):378-87.
  86. Rezende-Neto JB, Rizoli SB, Andrade MV, Lisboa TA, Cunha-Melo JR. Rabbit model of uncontrolled hemorrhagic shock and hypotensive resuscitation. *Braz J Med Biol Res.* 2010; 43(12):1153-9.
  87. Frink M, Andruszkow H, Zeckey C, Krettek C, Hildebrand F. Experimental trauma models: an update. *J Biomed Biotechnol.* 2011 [cited 2013 Mar 8]; 2011:797383. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3035380/pdf/JBB2011-797383.pdf>.
  88. Majde JA. Animal models for hemorrhage and resuscitation research. *J Trauma.* 2003; 54(5 Suppl):S100-5.
  89. Parr MJ, Bouillon B, Brohi K, Dutton RP, Hauser CJ, Hess JR, *et al.* Traumatic coagulopathy: where are the good experimental models? *J Trauma.* 2008; 65(4):766-71.

90. Frith D, Cohen MJ, Brohi K. Animal models of trauma-induced coagulopathy. *Thromb Res.* 2012; 129(5):551-6.
91. Baumgartner C, Bollerhey M, Ebner J, Laacke-Singer L, Schuster T, Erhardt W. Effects of ketamine-xylazine intravenous bolus injection on cardiovascular function in rabbits. *Can J Vet Res.* 2010; 74(3):200-8.
92. Rixen D, Neugebauer EAM. Changing paradigms in animal models of traumatic/hemorrhagic shock: a critical appraisal. *Eur J Trauma.* 2004; 30(5):279-88.
93. Siller-Matula JM, Plasenzotti R, Spiel A, Quehenberger P, Jilma B. Interspecies differences in coagulation profile. *Thromb Haemost.* 2008; 100(3):397-404.
94. Maani CV, DeSocio PA, Holcomb JB. Coagulopathy in trauma patients: what are the main influence factors? *Curr Opin Anaesthesiol.* 2009; 22(2):255-60.
95. Wohlauer MV, Moore EE, Harr J, Gonzalez E, Fragoso M, Silliman CC. A standardized technique for performing thromboelastography in rodents. *Shock.* 2011; 36(5):524-6.
96. Ibbotson SH, Davies JA, Grant PJ. The influence of infusions of 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) in vivo on thrombin generation in vitro. *Thromb Haemost.* 1992; 68(1):37-9.
97. Schlimp CJ, Cadamuro J, Solomon C, Redl H, Schöchl H. The effect of fibrinogen concentrate and factor XIII on thromboelastometry in 33% diluted blood with albumin, gelatine, hydroxyethyl starch or saline in vitro. *Blood Transfus.* 2013; 11(4):510-7.
98. Mapstone J, Roberts I, Evans P. Fluid resuscitation strategies: a systematic review of animal trials. *J Trauma.* 2003; 55(3):571-89.
99. Garner J, Watts S, Parry C, Bird J, Cooper G, Kirkman E. Prolonged permissive hypotensive resuscitation is associated with poor outcome in primary blast injury with controlled hemorrhage. *Ann Surg.* 2010; 251(6):1131-9.
100. Nishi K, Takasu A, Shinozaki H, Yamamoto Y, Sakamoto T. Hemodilution as a result of aggressive fluid resuscitation aggravates coagulopathy in a rat model of uncontrolled hemorrhagic shock. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013; 74(3):808-12.
101. Barak M, Rudin M, Vofsi O, Droyan A, Katz Y. Fluid administration during abdominal surgery influences on coagulation in the postoperative period. *Curr Surg.* 2004; 61(5):459-62.
102. Butenas S, Mann KG. Blood coagulation. *Biochemistry (Mosc)* 2002; 67(1):3-12.

103. Riha GM, Kunio NR, Van PY, Kremenevskiy I, Anderson R, Hamilton GJ, *et al.* Uncontrolled hemorrhagic shock results in a hypercoagulable state modulated by initial fluid resuscitation regimens. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013; 75(1):129-34.
104. Bolliger D, Szlam F, Levy JH, Molinaro RJ, Tanaka KA. Haemodilution-induced pro-fibrinolytic state is mitigated by fresh-frozen plasma: implications for early haemostatic intervention in massive haemorrhage. *Br J Anaesth.* 2010; 104(3):318-25.

*Apêndice A***Divisão dos grupos**

<b>G1</b>	<b>SHAM</b>
<b>G2</b>	<b>RVN + FXIII</b>
<b>G3</b>	<b>HP + FXIII</b>
<b>G4</b>	<b>RVN + FXIII + DDAVP</b>
<b>G5</b>	<b>HP + FXIII + DDAVP</b>
<b>G6</b>	<b>RVN SEM DROGAS</b>
<b>G7</b>	<b>FXIII SEM CHOQUE</b>
<b>G8</b>	<b>FXIII + DDAVP SEM CHOQUE</b>
<b>G9</b>	<b>HP SEM DROGAS</b>

RVN: reposição volêmica normotensiva  
HP: hipotensão permissiva

FXIII: fator XIII  
DDAVP: desmopressina



## Anexo A



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- CETEA -

### CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 261/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Efeitos da utilização do fato de coagulação XIII isolado e em associação à hipotensão permissiva e à desmopressina: estudo experimental com modelo de choque hemorrágico não controlado**", que tem como responsável(is) **João Baptista de Rezende Neto**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **14/ 12/2010**.

Este certificado expira-se em **14/ 12/ 2015**.

### CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 261/2010**, related to the project entitled "**Effects of the use of coagulation factor XIII isolated and associated to permissive hypotension and to desmopressina: experimental study with a uncontrolled hemorrhagic shock model**", under the supervisors of **João Baptista de Rezende Neto**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **December 14, 2010**.

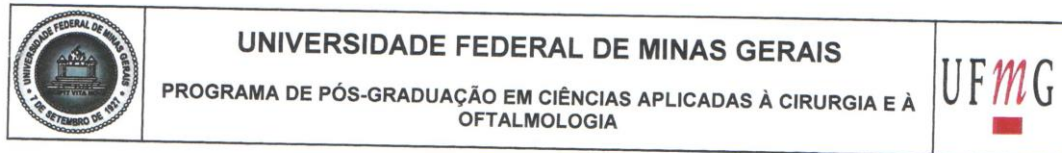
This certificate expires in **December 14, 2015**.

Belo Horizonte, 17 de Dezembro de 2010.

**Prof<sup>a</sup>. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite**  
Coordenadora do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 - Belo Horizonte, - MG - Brasil  
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592  
[www.ufmg.br/bioetica/cetea](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpg.ufmg.br](mailto:cetea@prpg.ufmg.br)

## Anexo B: Ata da defesa



### ATA DA DEFESA DE TESE DO ALUNO PAULO ROBERTO LIMA CARREIRO

Realizou-se, no dia 14 de fevereiro de 2014, às 14:00 horas, Fac Medicina – auditório CETES, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada *EFEITOS DO FATOR XIII DA COAGULAÇÃO, ISOLADO E EM ASSOCIAÇÃO À DESMOPRESSINA E À HIPOTENSÃO PERMISSIVA, EM MODELO DE CHOQUE HEMORRÁGICO NÃO CONTROLADO EM COELHOS*, apresentada por PAULO ROBERTO LIMA CARREIRO, número de registro 2010654271, graduado no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). José Renan da Cunha Melo - Orientador (UFMG), Prof(a). Daniel Dias Ribeiro (UFMG), Prof(a). Edson Samesima Tatsuo (UFMG), Prof(a). Vivian Resende (UFMG), Prof(a). Sandro Scarpelini (FMRP), Prof(a). Gustavo Pereira Fraga (UNICAMP).

A Comissão considerou a tese:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
Belo Horizonte, 14 de fevereiro de 2014.

  
Prof(a). José Renan da Cunha Melo (Doutor)

  
Prof(a). Daniel Dias Ribeiro (Doutor)

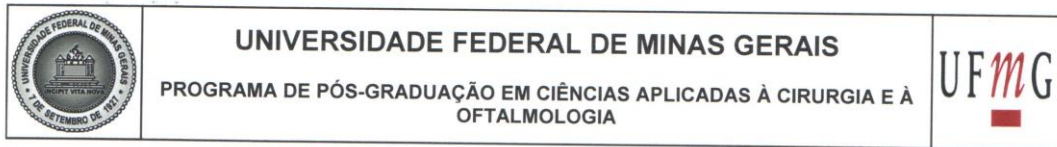
  
Prof(a). Edson Samesima Tatsuo (Doutor)

  
Prof(a). Vivian Resende (Doutora)

  
Prof(a). Sandro Scarpelini (Doutor)

  
Prof(a). Gustavo Pereira Fraga (Doutor)

## Anexo C: Folha de aprovação



### FOLHA DE APROVAÇÃO

**Efeitos do fator XIII da coagulação, isolado e em associação à desmopressina e à hipotensão permissiva, em modelo de choque hemorrágico não controlado em coelhos.**


### PAULO ROBERTO LIMA CARREIRO


Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, área de concentração RESPOSTA INFLAMATÓRIA À AGRESSÃO

Aprovada em 14 de fevereiro de 2014, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). José Renan da Cunha Melo - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Daniel Dias Ribeiro - Coorientador  
UFMG

  
Prof(a). Edson Sameşima Tatsuo  
UFMG

  
Prof(a). Vivian Resende  
UFMG

  
Prof(a). Sandro Scarpelini  
FMRP

  
Prof(a). Gustavo Pereira Fraga  
UNICAMP

Belo Horizonte, 14 de fevereiro de 2014.