

Talita Rechetelo Strano¹, Sérgio Luiz Rocha², Anna Carolina Borti de Oliveira³, Débora Bega³, Guilherme Zammar³, Misael Gomes Barbosa⁴

Análise comparativa da reposição volêmica com solução isotônica e solução hipertônica em ratos com sepse

A comparative analysis of isotonic versus hypertonic solution volume replacement in septic rats

1. Acadêmica de Iniciação Científica da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR – Curitiba (PR), Brasil.

2. Doutor, Professor Titular da Disciplina de Anatomia Médica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR – Curitiba (PR), Brasil e Professor Titular da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR – Curitiba (PR), Brasil.

3. Acadêmicos do curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR – Curitiba (PR), Brasil.

4. Acadêmico do curso de Biologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR – Curitiba (PR), Brasil.

RESUMO

Objetivo: Há controvérsias sobre o melhor fluido a ser utilizado na reposição volêmica no tratamento da sepse. O objetivo do estudo foi comparar a reposição volêmica com solução salina isotônica à 0,9% ou com solução salina hipertônica à 7,5% , em ratos com sepse induzida pela ligadura e punção do ceco.

Métodos: Estudo experimental com 30 ratos Wistar, divididos em três grupos: controle (GC, n=10), solução isotônica (GSI, n=10) e solução hipertônica (GSH, n=10). Em todos os grupos foi realizada a ligadura e punção do ceco, sendo avaliadas, após 15 horas, a frequência respiratória, pressão arterial média, fluxos sanguíneos hepático e renal, peso e coleta de sangue para dosagem de TNF- α . No grupo solução isotônica e grupo solução hipertônica houve reposição volêmica 60 minutos antes com solução salina a 0,9% e solução salina a 7,5%, respectivamente.

Resultados: Ocorreram dois óbitos na amostra total. Houve diferença significativa do peso médio dos ratos após 15 horas de sepse ($p=0,018$), principalmente se comparados GSI e GSH ($p=0,003$). O fluxo sanguíneo renal também apresentou diferenças significativas entre os grupos GC e GSH ($p=0,002$), e GC e GSI ($p=0,008$), mas sem significância entre GSI e GSH. A melhora da PAM com o uso de SSH não foi constatada ($p=0,054$). As demais variáveis não apresentaram significância para o estudo.

Conclusões: Embora não tenham sido evidenciadas melhorias na pressão arterial média, bem como no fluxo hepático e TNF- α , ratos submetidos à sepse por ligadura e punção do ceco, após 15 horas, apresentaram aumento significativo do fluxo sanguíneo renal independente do uso de solução salina isotônica à 0,9 % ou hipertônica à 7,5%.

Descritores: Solução salina hipertônica; Soluções isotônicas; Sepse; Ratos Wistar

Recebido do Laboratório de Técnica Operatória / Medicina / CCBS. Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR – Curitiba (PR), Brasil.

Submetido em 17 de Agosto de 2010
Aceito em 26 de Outubro de 2010

Autor para correspondência:

Talita Rechetelo Strano
Rua Acácio Correa, 455
CEP: 80220-280 – Curitiba (PR), Brasil.
Fone: (41) 3332-1497
E-mail: tah_27@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A presença de microorganismos ou de seus produtos tóxicos na corrente sanguínea, as alterações hemodinâmicas e a resposta inflamatória local e generalizada, são processos distintos, porém concomitantes, que caracterizam e definem a sepse como uma síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) decorrente de infecção por qualquer tipo de microorganismo.^(1,2)

Apesar dos progressos diagnósticos e terapêuticos, a sepse continua apresentando altas taxas de mortalidade, entre 30% a 80%,⁽³⁾ sendo a principal causa de morte em unidades de terapia intensiva (UTI).⁽⁴⁾ No Brasil, segundo o estudo BASES,⁽⁵⁾ a sepse e o choque séptico são responsáveis por 24,3% e 52,2% dos óbitos em UTI, respectivamente.

Pacientes em quadro séptico padecem de acentuados distúrbios hemodinâmicos, evidenciados principalmente na sua evolução para choque séptico em 35% a

40% dos casos.⁽⁶⁾ Ocorrem complexas alterações na contratilidade miocárdica, na micro- e macrocirculação, causando a diminuição da perfusão e da oferta de oxigênio tecidual.⁽⁷⁾

Dessa maneira, por ser uma patologia comum, dispendiosa e potencialmente fatal, sendo pouco o progresso em relação à mudança nas taxas de mortalidade,⁽⁸⁾ torna-se necessário uma terapia agressiva contra a sepse, incluindo a antibioticoterapia e um tratamento de suporte, principalmente hemodinâmico, através da reposição volêmica para restabelecimento da perfusão tecidual.

No entanto, a análise de estudos resulta num debate sobre o melhor fluido a ser utilizado para reposição volêmica. Segundo o Consenso Brasileiro de Sepse (2003),⁽⁹⁾ os cristalóides são a primeira escolha. Dentre eles, a solução salina isotônica (NaCl 0,9%) é a mais utilizada, porém com a necessidade de infusão de grandes volumes. Já as soluções hipertônicas melhoram a contratilidade cardíaca e fazem vasodilatação pré-capilar, apresentando, porém, risco de desenvolvimento de estados hipertônicos.⁽⁹⁻¹¹⁾

O uso da solução salina hipertônica tem sido pouco estudado no campo da sepse, sendo seus principais mecanismos de ação a rápida mobilização de fluidos do compartimento intracelular para o extracelular, redução do edema endotelial e tissular, aumento da contratilidade miocárdica, melhora do débito cardíaco, vasodilatação arteriolar, melhora da microcirculação, hemodiluição e imunomodulação.^(10,11)

Assim, visto que o uso das soluções hipertônicas no manejo da sepse ainda encontra-se indefinido, o presente estudo tem por objetivo a comparação das respostas hemodinâmicas a partir da análise da reposição volêmica com solução salina isotônica (SSI) à 0,9% e com solução salina hipertônica (SSH) à 7,5% em ratos com sepse induzida pela ligadura e punção do ceco (LPC), modelo de injúria abdominal que mais se assemelha ao quadro de sepse em humanos.^(1,12)

MÉTODOS

Após aprovação do projeto do presente estudo pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA), da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), foi realizado um estudo experimental, no laboratório de técnica operatória da PUCPR, utilizando-se 30 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos, cedidos pelo biotério também da PUCPR.

Os animais, com peso médio de 310 gramas, foram distribuídos em três grupos: Grupo controle (GC, n=10), Grupo solução isotônica (GSI, n=10) e Grupo solução hipertônica (GSH, n=10).

Em um primeiro procedimento, foi realizada a LPC em todos os grupos, iniciada pela anestesia, via intramuscular, com

quetamina (90mg/kg) e xilasina (10mg/kg), tricotomia abdominal e mensuração do peso e frequência respiratória (FR). Em seguida, realizou-se a LPC através de uma laparotomia mediana supra-umbilical, ligadura da porção livre do ceco com fio de algodão 3-0 e três punções com agulha 40-12. Por fim, seguiu a sutura da parede abdominal em dois planos com fio de náilon 4-0, seguida da analgesia com Banamine injetável (flunixin meglumina) 0,1ml diluído em 0,9ml de soro fisiológico.

Os ratos dos três grupos foram deixados em gaiolas com água, alimento e temperatura ambiente do laboratório, por 15 horas de evolução do pós-operatório.

Dessa maneira, passadas 15 horas da ligadura e punção do ceco, foi realizada no GC anestesia intramuscular com quetamina (90mg/kg) e xilasina (10mg/kg), mensuração do peso, incisão de 1cm em região inguinal, dissecação de artéria e veia femoral, anticoagulação em veia femoral com 0,2 ml de heparina sódica 5000 UI/ml, cateterização de artéria femoral com cateter 24G e a mensuração da pressão arterial média (PAM) com esfigmomanômetro de coluna de mercúrio, ligado ao cateter por equipo para soro. Em seguida, foi realizada nova laparotomia para análise de fluxo sanguíneo hepático e renal (rim esquerdo), por 90 segundos através do LASERFLO *Blood Perfusion Monitor* BPM², disponível no laboratório de técnica operatória da PUCPR.

Após os fluxos, foi coletado material sanguíneo, via cateter da artéria femoral, centrifugado na centrífuga CT-6000R, na velocidade de 2600 rpm, durante 15 minutos, assim obtendo plasma, o qual foi conservado à -80°C para posterior dosagem de TNF- α , cuja quantidade foi determinada com o protocolo Rat TNF- α ELISA Development kit.

Por fim, realizou-se a eutanásia com tiopental 250mg/100g, sendo cada grama diluída em 40 ml de soro fisiológico, seguida da remoção de rim esquerdo, fígado e pulmão.

Nos grupos GSI e GSH o procedimento após 15 horas foi o mesmo do GC, exceto pela reposição volêmica 60 minutos antes do seu início. No GSI foi infundido 32 ml/kg, via subcutânea, de solução salina à 0,9%, enquanto no grupo GSH foi infundido 4 ml/kg, via subcutânea, de solução salina à 7,5%.

Para a comparação dos grupos em relação às variáveis quantitativas foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo valores de $p < 0,05$ significativamente estatísticos.

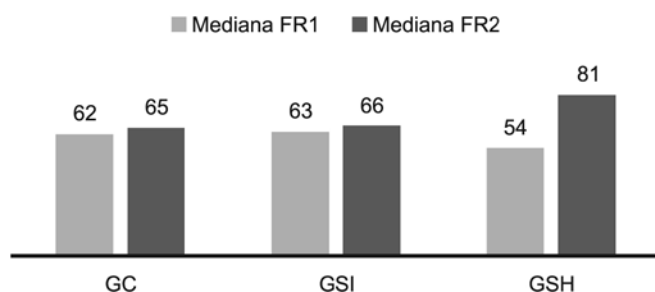
RESULTADOS

Foram realizados os procedimentos experimentais, nos três grupos, com a devida monitorização da FR, PAM, fluxos sanguíneos hepático e renal, seguida da coleta de sangue e remoção de fígado, rim esquerdo e pulmões.

O óbito, antes do sacrifício, ocorreu apenas em dois ratos

da amostra total, sendo eles do grupo GSI.

Com relação à FR, verifica-se aumento da mediana no segundo procedimento (FR 2), com maior destaque para o GSH, inclusive se comparado ao GSI (Gráfico 1), embora seja importante ressaltar que não houve significância estatística, quando os grupos são comparados entre si, sendo p para FR 1 de 0,199 e para FR 2 de 0,767.



FR - frequência respiratória 1; GC - grupo controle; GSI - grupo solução isotônica; GSH - grupo solução hipertônica.

Gráfico 1 – Análise comparativa da frequência respiratória entre os grupos. Verifica-se aumento da mediana de todas as frequências respiratórias no segundo procedimento, porém com maior destaque para o GSH. Dados expressos em mediana

A melhora da PAM com o uso de SSH foi constatada, tendo o GC uma média de 40,9 mmHg, GSI 42,8 mmHg, e o GSH média de 57,9 mmHg, porém sem significância, $p=0,054$ (Tabela 1).

A mensuração do mediador inflamatório TNF- α no soro dos ratos não apresentou significância estatística, pois quando comparados os três grupos $p=0,107$.

A avaliação do fluxo sanguíneo hepático demonstrou um fluxo maior no GC, com mediana de 31,5 ml/min/100g, enquanto os grupos GSI e GSH obtiveram medianas do fluxo hepático de 29 e 30 ml/min/100g respectivamente, mas sem significado estatístico, com $p=0,678$ quando comparados os três grupos.

Enfim, apenas para as variáveis fluxo renal e peso foram encontradas diferenças significativas entre os três grupos. Sendo assim, os grupos foram comparados dois a dois. Foi possível observar, avaliando-se a diferença de peso entre os dois procedimentos cirúrgicos (ligadura e punção do ceco, caracterizando Peso 1, e re-operação para avaliação hemodinâmica após repo-

sição volêmica, como Peso 2), um decréscimo de 2,7% no peso mediano do GC entre as 15 horas de evolução, apresentando mediana de 315,50 gramas antes da ligadura e 307,0 gramas após 15 horas. Enquanto no GSI houve aumento de 0,47% e no GSH, redução de 0,85%. Lembrando que estes resultados, quando comparados entre os grupos, apresentam significância estatística para peso 2, visto que $p=0,018$, principalmente se comparados GSI e GSH, com $p=0,003$.

Já o fluxo renal apresentou diferenças significativas entre os grupos GC e GSH ($p=0,002$), e GC e GSI ($p=0,008$), mas sem significância entre GSI e GSH, sendo a mediana do GC 14 ml/min/100g, GSI 28 ml/min/100g e GSH 30 ml/min/100g (Gráfico 2).

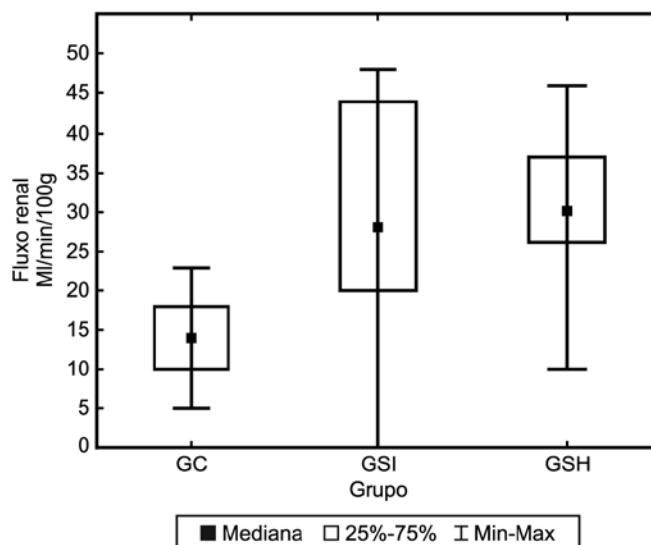


Gráfico 2 - Variável fluxo sanguíneo renal dos três grupos experimentais (G1 = GSI, G2 = GSH), sendo a mediana do GC 14 ml/min/100g, GSI 28 ml/min/100g e GSH 30 ml/min/100g.

Na tabela 2 são apresentados média, mediana, valores máximos e mínimos, além do desvio padrão das variáveis fluxo sanguíneo renal e peso 1 e 2. A comparação dois a dois entre os grupos para estas variáveis é significativa para peso 2 quando comparados GC com GSI e com GSH, com $p=0,008$ e $0,002$, respectivamente. Já para a variável fluxo renal houve significância apenas a comparação entre GSI e GSH, com $p=0,003$.

Tabela 1 – Comparação da pressão arterial média entre os grupos

Variável	Grupo	N	Média \pm Desvio padrão	Mediana (mínimo-máximo)	Valor de p
PAM	GC	10	40,9 \pm 16,74	41 (22-70)	0,054
	GSI	10	42,8 \pm 16,26	49 (0-54)	
	GSH	10	57,9 \pm 13,30	59 (39-78)	

PAM – pressão arterial média; GSI – grupo salina isotônica; GSH – grupo salina hipertônica; GC – grupo controle.

Tabela 2 – Comparação das variáveis fluxo sanguíneo renal e peso entre os grupos

Variável	Grupo	N	Média ± Desvio padrão	Mediana (mínimo-máximo)	Valor de p
Fluxo renal (ml/min/100g)	GC	10	13,9 ± 6,30	14 (5-23)	0,008
	GSI	10	28,0 ± 17,64	28 (0-48)	
	GSH	10	29,8 ± 9,99	30 (10-46)	
Peso 1 (g)	GC	10	318,0 ± 13,56	315,5 (296-342)	0,108
	GSI	10	321,0 ± 16,68	319 (298-346)	
	GSH	10	293,6 ± 33,16	296,5 (245-348)	
Peso 2 (g)	GC	10	308,9 ± 13,30	307 (291-339)	0,018
	GSI	10	318,1 ± 15,45	320,5 (288-340)	
	GSH	10	285,2 ± 31,44	294 (236-335)	

GSI – grupo salina isotônica; GSH – grupo salina hipertônica; GC – grupo controle. GC x GSI fluxo renal: p= 0,008, Peso 2: p=0,145.

DISCUSSÃO

Embora se tenha descoberto muito em relação à fisiopatologia da sepse,⁽¹³⁾ melhorando as perspectivas de tratamento, alguns pontos permanecem incertos,⁽¹⁴⁾ sendo um deles a terapia de reposição volêmica com solução salina hipertônica.⁽¹¹⁾

A fim de verificar os benefícios descritos na literatura sobre a SSH como terapia para restauração hemodinâmica na sepse, o presente trabalho realizou a reposição volêmica com SSH 7,5% em comparação à reposição com SSI 0,9%, em ratos com sepse induzida pela ligadura e punção do ceco, tendo como referência um grupo séptico sem intervenção, o grupo controle.

A ligadura e punção do ceco foi proposta como modelo experimental mais fidedigno à sepse humana, uma vez que reflete um modelo de abscesso como foco séptico local, mimetizando apendicite ou diverticulite perfurada no homem, além de ser um procedimento simples e que permite um misto de bactérias, promovendo rápido choque séptico, embora com difícil controle da magnitude da sepse.⁽¹²⁾ Foi necessário também a heparinização para evitar coagulação durante o procedimento.⁽¹⁵⁾

O óbito antes do sacrifício ocorreu apenas em dois ratos do grupo GSI, sendo apenas um após ligadura e punção do ceco, correspondendo à 6,66% da amostra total, sem impacto significativo para o estudo. Este resultado só foi possível após realização de alguns pilotos experimentais, verificando-se a necessidade de reduzir o pós-operatório para 15 horas e não 18 horas, como descrito em estudos, os quais relatam a morte de grande parte da amostra.⁽⁷⁾ Caso contrário, a amostra seria insuficiente para a comparação após reposição volêmica.

A reposição da quantidade de 32 ml/kg de solução salina a 0,9% e de 4 ml/kg, de solução salina a 7,5%, foi assim utilizada para que a quantidade de NaCl fosse aproximadamente igual entre os grupos (0,075g NaCl), não interferindo de maneira excêntrica no equilíbrio hidroeletrólítico, nem necessitando de infusão de grandes volumes.

Dessa maneira, para a demonstração do efeito da SSH na

correção volêmica em ratos com sepse, foram mensuradas frequência respiratória, pressão arterial média, fluxo sanguíneo hepático e renal, bem como a mensuração de TNF- α .

A diferença de peso entre os dois procedimentos cirúrgicos foi importante. No GSI ocorreu aumento de 0,47% do peso médio dos ratos entre a LPC e a realização das variáveis após 15 horas. Já o GSH apresentou redução de 0,85%, sendo menor quando comparada com a redução de 2,7% do GC. Esta diferença mostra um p de 0,003 quando comparados GSI e GSH, o que reflete significância estatística, estando de acordo com os benefícios relatados na literatura sobre a SSH.^(10,11) Isto é, o peso do GSI pode ter aumentado em virtude da sua distribuição maior para o espaço extracelular, havendo, portanto, necessidade de grandes volumes, o que pode desencadear um extravasamento intersticial resultando em edema de tecido.⁽¹¹⁾ A redução ocorrida no GC foi de maior proporção do que no GSH devido à própria reposição volêmica, que não ocorreu no GC, demonstrando, portanto, se não o principal, um dos mais importantes benefícios da SSH, a rápida mobilização de fluídos do compartimento intracelular para o extracelular e redução do edema endotelial e tissular, sem a necessidade de grandes volumes infundidos.^(10,11)

Diante dos resultados da mensuração da frequência respiratória, houve aumento em todos os grupos, porém sem significância estatística, não demonstrando inicialmente melhora da FR como Garrido et al.⁽¹⁴⁾ e Friedman et al.⁽¹¹⁾, em seu artigo de revisão, assim o demonstraram, caracterizando melhora da extração de oxigênio, embora seja interessante, num próximo estudo, a realização de uma oximetria detalhada.

Na revisão de literatura de Friedman et al.,⁽¹¹⁾ verificou-se a melhora da PAM com o uso de SSH, a qual foi constatada no trabalho, tendo o GC uma média de 40,9 mmHg, GSI 42,8 mmHg, e o GSH média de 57,9 mmHg, porém sem significância, p=0,054. Isso demonstra, mesmo não sendo significativo, que houve a tentativa de restauração de volume com a reposição salina.

A mensuração do mediador inflamatório TNF- α no soro dos ratos foi realizada de maneira bastante criteriosa e, como resultado, não apresentou significância estatística ($p=0,107$). Não foram encontrados estudos referentes a dosagem de TNF na terapia de reposição volêmica com SSH em ratos com sepse. O TNF é uma citocina importante na sepse e a primeira que aparece na circulação,⁽¹⁾ induz a liberação de neutrófilos da medula óssea, é indutor do catabolismo muscular, estimula angiogênese, promove síntese de proteínas inflamatórias, estimula a coagulação, além da sua administração em animais induzir a síndrome com características da sepse.⁽¹⁾

A avaliação do fluxo hepático demonstrou um fluxo maior no GC, com mediana de 31,5 ml/min/100g, possivelmente pela magnitude da sepse, visto que nesses ratos não houve intervenção terapêutica, como ocorrido no GSI e GSH, que obtiveram fluxos menores, 29 e 30 respectivamente, mas sem significado estatístico, $p=0,678$ quando comparados os três grupos.

O fluxo renal apresentou diferenças significativas entre os grupos GC e GSH, e GC e GSI, porém não significativa entre os GSI e GSH, o que pode refletir uma melhora na função renal. Garrido et al.,⁽¹⁴⁾ sugerem que a SSH consegue melhorar a redistribuição do fluxo sanguíneo e perfusão microcirculatória.

CONCLUSÃO

Assim, embora não tenham sido evidenciadas melhorias na PAM, bem como no fluxo sanguíneo hepático e TNF- α , os ratos submetidos à sepse por LPC após 15 horas apresentaram aumento significativo do fluxo sanguíneo renal independente do uso de solução salina isotônica à 0,9 % ou hipertônica à 7,5%.

ABSTRACT

Purpose: Sepsis severity and mortality risk require aggressive therapy which includes hemodynamic support. The best fluid for volume replacement, however, is controversial. This study aimed to compare 0.9% isotonic saline solution versus 7.5% hypertonic saline solution as volume replacement fluid in sepsis induced by cecum ligation plus puncture rats.

Methods: This experimental trial included 30 rats divided into three groups: Control group (CG, n = 10), isotonic (ISG, n = 10) and hypertonic solution (HSG, n = 10). Fifteen hours after cecum ligation and puncture, all animals underwent respiratory rate, mean arterial pressure, renal and hepatic blood flow and weight evaluation, plus blood collection for TNF- α measurement. The ISG and HSG treatment groups received volume replacement 60 minutes before the procedure with either 0.9% or 7.5% saline solution, respectively.

Results: Two animals died. Significant differences were found for the animals' mean weight after 15 hours ($p=0.018$), particularly relevant when ISG and HSG are compared ($p=0.003$). Renal blood flow was also significantly different for the CG versus HSG ($p=0.002$) and CG versus ISG ($p=0.008$), but not significantly different for ISG versus HSG. No mean arterial pressure improvement was found for HSG (0.054). Other variables were not significant.

Conclusions: Although no mean blood pressure, hepatic flow or TNF- α improvements were detected, the rats with sepsis 15 hours after cecum ligation and puncture showed significantly increased renal blood flow which was 0.9% isotonic saline solution or of 7.5% hypertonic solution use independent.

Keywords: Saline solution, hypertonic; Isotonic solutions; Sepsis; Rats, Wistar

REFERÊNCIAS

1. Benjamim CF. Atualização sobre mediadores e modelos experimentais de sepse. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2001;34(1):18-26.
2. Levy M, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; International Sepsis Definitions Conference. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med*. 2003;29(4):530-8.
3. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med*. 1998;26(12):2078-86.
4. Friedman G. Contribuições para o entendimento da principal causa de morte em unidades de tratamento intensivo: a sepse. *Rev HCPA & Fac Med Univ Fed Rio Gd do Sul*. 1999;19(3):350-75.
5. Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, Cal RG, de Sousa EF, Abe TP, de Andrade J, de Matos JD, Rezende E, Assunção M, Avezum A, Rocha PC, de Matos GF, Bento AM, Corrêa AD, Vieira PC, Knobel E; Brazilian Sepsis Epidemiological Study. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care*. 2004;8(4):R251-60.
6. Pereira Junior GA, Marson F, Abeid M, Ostini FM, Souza SH, Basile-Filho A. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 1998;31(3):349-62.
7. Oliveira RP. Ressuscitação hipertônica com salina/dextran em pacientes sépticos graves estáveis: um estudo

- randomizado [dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2001.
8. Carvalho PRA, Trotta EA. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79(Supl 2):S195-204.
 9. Hospital Israelita Albert Einstein; Associação de Medicina Intensiva. Consenso Brasileiro de Sepse – Suporte Hemodinâmico. São Paulo; 2003.
 10. Oliveira PC. Pressão arterial e manipulação tubular renal de sódio em um modelo de septicemia em ratos [dissertação]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas; 2001.
 11. Friedman G, Soriano FG, Rios ECS. Reposição de volume na sepse com solução salina hipertônica. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2008;20(3):267-77.
 12. Garrido AG, Figueiredo LFP, Silva MR. Experimental models of sepsis and septic shock: an overview. *Acta Cir Bras*. 2004;19(2):82-8.
 13. Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. *Crit Care Med*. 1989;17(5):389-93.
 14. Garrido Adel P, Cruz RJ Jr, Poli de Figueiredo LF, Rocha e Silva M. Small volume of hypertonic saline as the initial fluid replacement in experimental hypodynamic sepsis. *Crit Care*. 2006;10(2):R62.
 15. Brito MVH, Moura FAS, Carballo MCS, Tavares MLB, Santos LLT, Carvalho RA. Técnica para obtenção de sangue central em ratos. *Rev Para Med*. 2002;16(4):22-5.