

Efeito da Hemodiluição Normovolêmica Aguda na Coagulação Sanguínea: Comparação entre os Testes Colhidos de um Modelo *In Vivo* e de um Modelo *In Vitro*

Marco Aurélio Beloto de Souza ¹, Jyrson Guilherme Klamt, TSA ², Luís Vicente Garcia, TSA ²

Resumo: Souza MAB, Klamt JG, Garcia LV – Efeito da Hemodiluição Normovolêmica Aguda na Coagulação Sanguínea: Comparação entre os Testes Colhidos de um Modelo *In Vivo* e de um Modelo *In Vitro*.

Justificativa e objetivos: A hemodiluição normovolêmica produz resultados conflitantes na hemostasia, pois os trabalhos diferem quanto a tipo de líquido utilizado, profundidade da hemodiluição, método utilizado para avaliar a hemostasia e forma de se produzir hemodiluição. O efeito da hemodiluição na hemostasia pode depender da forma como ela é feita, se no modelo *in vivo* ou no modelo *in vitro*. O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a hemostasia em ambos os modelos, em dois diferentes graus de profundidade.

Método: Treze pacientes foram submetidos à hemodiluição normovolêmica aguda e o hematócrito foi reduzido para 30% e 20%. A volemia foi mantida com lactato de Ringer. Foram colhidas amostras de sangue para avaliação da hemostasia nos momentos M1 – antes da hemodiluição, M2 – 20 minutos após a obtenção do hematócrito de 30% e M3 – 20 minutos após a obtenção do hematócrito de 20%. Antes da hemodiluição, amostras de sangue foram colhidas para a realização da hemodiluição em um tubo de ensaio. Os graus de hemodiluição no tubo de ensaio (*in vitro*) foram os mesmos que os produzidos nos pacientes (*in vivo*). A hemostasia foi avaliada por meio dos tempos de protrombina, trombo-plastina parcial ativado e de trombina e da quantificação do fibrinogênio.

Resultados: O comportamento dos testes que avaliaram a hemostasia foi idêntico nos dois modelos utilizados. Houve aumento do TP, do TTPA e do TT e diminuição da concentração de fibrinogênio. Quanto maior o grau de hemodiluição, maior o comprometimento da coagulação.

Conclusões: O modelo *in vitro* pode substituir o modelo *in vivo* na avaliação da hemostasia durante hemodiluição normovolêmica aguda.

Unitermos: SANGUE: coagulação, hemodiluição normovolêmica.

[Rev Bras Anesthesiol 2010;60(4): 363-375] ©Elsevier Editora Ltda.

INTRODUÇÃO

A hemodiluição normovolêmica aguda (ANH) é utilizada com o objetivo de reduzir as transfusões alogênicas no período perioperatório ¹. Consiste na retirada de uma quantidade de sangue para uma bolsa plástica com anticoagulante e a infusão concomitante de uma solução acelular para manutenção da volemia ². Pacientes hemodiluídos para hematócritos tão baixos quanto 20% conseguem manter a oferta de oxigênio para os tecidos em decorrência de vários mecanismos compensatórios que se instalam ³. No entanto, para a bolsa plástica são perdidos, além dos glóbulos vermelhos, fatores de coagulação e plaquetas, o que pode prejudicar os mecanismos de hemostasia durante a cirurgia ⁴. Controvérsias a respeito da hemostasia durante a hemodiluição são tão antigas quanto a própria hemodiluição, já que os inúmeros

trabalhos diferem quanto ao tipo de líquido utilizado para a reposição volêmica ⁵⁻⁷, à profundidade da hemodiluição ⁸, ao método utilizado para avaliar a hemostasia ^{9,10} e à forma de se produzir hemodiluição ^{5,6}.

A reposição volêmica com colóides ou cristalóides pode influenciar a hemostasia. Konrad e col. testaram, utilizando um método viscoelástico para avaliar a formação do coágulo, o efeito de diferentes soluções de reposição na hemostasia e demonstraram que o *hydroxyethyl starch* (HES) prolongou o tempo de formação do coágulo, a solução de lactato de Ringer não afetou e a solução de gelatina apresentou efeito mínimo sobre a hemostasia ⁹. Da mesma forma, Egli e col. avaliaram o efeito de diferentes soluções de reposição, mas variaram também a profundidade da hemodiluição e demonstraram que o HES prolonga o tempo de formação do coágulo em qualquer grau de hemodiluição e que a solução salina, com a hemodiluição do hematócrito para 30%, reduz o tempo de formação do coágulo produzindo um estado de hipercoagulabilidade ¹¹.

A hemostasia pode ser avaliada por meio de vários métodos, desde testes laboratoriais como tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina (TTPA), tempo de trombina (TT), contagem de plaquetas, quantificação da antitrombina III e quantificação do fibrinogênio até testes funcionais como a tromboelastografia. Ruttman, James e Aronson utilizaram métodos laboratoriais e também a tromboelastografia e concluíram que a hemodiluição tem efeito pró-coagulante, possivelmente pela aceleração na formação de trombina ⁶.

Recebido do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo

1. Anestesiologista; Pós-graduando da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

2. Professor Assistente-Doutor Professor da Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Submetido em 4 de fevereiro de 2010

Aprovado para publicação em 15 de março de 2010

Endereço para correspondência:

Dr. Luís Vicente Garcia

Rua José da Silva, 624/94

14090-040, Ribeirão Preto, SP

E-mail: lv Garcia@fmrp.usp.br

Vários estudos avaliaram a hemostasia em hemodiluições produzidas no tubo de ensaio ^{5,9,12,13}. Neste estudo, testou-se a hipótese de que a hemodiluição produzida no tubo de ensaio não pode produzir o mesmo efeito na coagulação que a hemodiluição produzida *in vivo*, já que os mecanismos compensatórios não ocorrem naquela situação. Testou-se, ainda, a hipótese de que quanto maior a profundidade da hemodiluição maior o grau de comprometimento da hemostasia. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da hemodiluição *in vivo* e o da hemodiluição *in vitro* na hemostasia em dois diferentes graus de profundidade.

MÉTODO

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Todos os pacientes recrutados para o estudo receberam o convite para a participação durante a visita pré-anestésica e assinaram, após esclarecimentos detalhados sobre os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Pacientes com idade inferior a 18 anos tiveram o Termo de Consentimento assinado pelo responsável legal.

Foram selecionados 13 pacientes que preencheram os critérios de inclusão: submissão à cirurgia eletiva com expectativa de perda sanguínea superior a 700 mL, estado físico I ou II (classificação da Sociedade Americana de Anestesiologia), idade entre 15 e 60 anos e hematócrito, no período pré-operatório imediato, entre 36% e 50%. Não foram incluídos pacientes que fizeram uso, até 60 dias antes do procedimento cirúrgico, dos seguintes medicamentos: ácido acetilsalicílico e derivados, anti-inflamatórios não hormonais, anticoagulantes orais e heparina.

Todos os pacientes foram submetidos à anestesia geral sob ventilação mecânica controlada. Na sala de pré-anestesia, uma veia foi puncionada na prega do cotovelo ou no dorso da mão para administração da medicação pré-anestésica (0,05 a 0,1 mg.kg⁻¹ de midazolam) e posterior indução da anestesia geral. Em seguida, cada paciente foi encaminhado para a respectiva sala de cirurgia. Imediatamente antes da indução anestésica, instalou-se monitoração básica: eletrocardiografia, oximetria de pulso e pressão arterial não invasiva. A técnica anestésica padronizada foi anestesia geral com ventilação mecânica controlada. Na indução anestésica, foram utilizados os seguintes medicamentos: sufentanil (0,3 a 0,5 mg.kg⁻¹) ou remifentanil (0,2 a 0,4 µg.kg⁻¹.h⁻¹), propofol (2 a 4 mg.kg⁻¹) e atracúrio (0,5 mg.kg⁻¹). Após intubação traqueal, o paciente foi colocado sob ventilação mecânica controlada com volume-corrente entre 8 e 10 mL.kg⁻¹ e a frequência respiratória ajustada para obtenção de P_{ET}CO₂ inicial entre 30 e 40 mmHg. Quando havia necessidade de o paciente ser posicionado em decúbito ventral, os parâmetros ventilatórios eram novamente ajustados para obtenção de P_{ET}CO₂ entre 30 e 40 mmHg.

A hipnose foi mantida com infusão contínua de propofol e opioide (sufentanil 0,5 mg.kg⁻¹.h⁻¹ ou remifentanil 0,2 µg.kg⁻¹.h⁻¹). O uso de gases anestésicos (isoflurano) foi livre no auxílio da manutenção do plano anestésico. Bloqueador neuromuscular foi readministrado a cada 40 a 60 minutos em incrementos de

5 mg, para evitar movimentos do paciente durante o procedimento cirúrgico.

Após indução anestésica, um cateter 18 ou 20G foi inserido em um das artérias radiais com o objetivo de se aferir a pressão arterial de forma invasiva e retirar sangue para o processo de hemodiluição. Em seguida, para reposição volêmica e posterior devolução do sangue retirado durante a hemodiluição, outra veia foi puncionada na prega do cotovelo para a inserção de um cateter de grosso calibre (16G ou 14G). Nos pacientes que ficaram em posição de decúbito ventral durante o procedimento cirúrgico, foi inserido um cateter de dupla via por meio de punção da veia jugular interna ou subclávia. Foi inserido na orofaringe um termômetro para aferição da temperatura. Todos os pacientes receberam, ainda, sondagem vesical realizada pela equipe cirúrgica para aferição do débito urinário. Dependendo do tipo de procedimento cirúrgico, para controle da dor intra e pós-operatória realizou-se anestesia regional prévia à anestesia geral.

Uma vez o paciente posicionado para a cirurgia, iniciou-se o processo de hemodiluição que foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa, retirou-se volume de sangue suficiente para que o hematócrito atingisse o valor de 30% e, na segunda etapa, volume complementar de sangue para que o hematócrito atingisse o valor de 20%. Após a obtenção do hematócrito de 30%, aguardou-se o tempo de 20 minutos para o início da segunda etapa. O cálculo desse volume foi realizado por meio da fórmula de Gross ¹⁴: volume de sangue a ser retirado (em mililitros) = (VSE).(htci – htcf).(htcm)⁻¹, em que htci é o hematócrito inicial, htcf é o hematócrito a ser atingido, htcm é o hematócrito médio, ou seja, (htci + htcf)/2 e o VSE é o volume sanguíneo estimado em mililitros. Para cálculo da volemia, utilizou-se a proporção de 65 mL.kg⁻¹ para pacientes do sexo feminino e de 70 mL.kg⁻¹ para pacientes do sexo masculino ¹⁵.

O sangue foi retirado pelo cateter previamente inserido na artéria radial e armazenado em bolsas contendo 50 mL de citrato, fosfato, dextrose e adenina (CPD-A). Em cada bolsa armazenou-se, no máximo, o volume de 450 g de sangue. Esse sangue ficou armazenado na própria sala de cirurgia, à temperatura ambiente, pelo período máximo de 6 horas. Durante todo o processo de hemodiluição, alguns parâmetros hemodinâmicos (pressão arterial e frequência cardíaca) foram acompanhados minuto a minuto.

Concomitantemente à retirada do sangue, infundiu-se, para manutenção da volemia, solução de lactato de Ringer (LR). Essa solução foi previamente aquecida em forno de micro-ondas durante 1 minuto (temperatura aproximada de 37°C). A velocidade de infusão do lactato de Ringer foi três vezes superior à velocidade de retirada do sangue e o volume infundido foi de 3 mL para cada mililitro de sangue retirado. O tempo para a retirada do volume de sangue calculado não excedeu 45 minutos e se estendeu, em alguns casos, até os momentos iniciais da cirurgia (abertura de pele e dissecação de planos).

Todo o volume de sangue retirado foi devolvido ao paciente ao término do procedimento anestésico ou antes disso, caso houvesse necessidade. Constituíram critérios para a devolução do sangue antes do momento planejado a instabilidade

de hemodinâmica (hipotensão arterial com PAS < 55 mmHg e taquicardia (FC > 120 bpm) não responsivas à infusão de líquidos) ou sinais de sofrimento celular (lactato plasmático acima de 3,5 g.dL⁻¹).

Os seguintes dados foram medidos continuamente durante todo o procedimento e registrados a cada 5 minutos: pressão arterial invasiva, frequência cardíaca e saturação da hemoglobina pelo oxigênio. O P_{ET}CO₂ e a temperatura esofágica foram registrados a cada 15 minutos. De hora em hora, até o término do procedimento, realizou-se balanço hídrico, com medição do débito urinário, dos líquidos perdidos e dos líquidos administrados.

Imediatamente antes de se realizar a hemodiluição nos pacientes (denominada hemodiluição *in vivo*), colheu-se amostra de sangue para a realização da hemodiluição *in vitro*. Essa hemodiluição foi realizada no tubo de ensaio e os valores-alvos do hematócrito também foram 30% e 20%, a exemplo do que ocorreu na hemodiluição *in vivo*. Para a obtenção dos hematócritos pretendidos, adicionou-se a 10 mL de volume de sangue de lactato de Ringer de acordo com a fórmula C1V1 = C2V2, onde C1 é o hematócrito inicial do paciente, V1 é o volume de sangue colocado no tubo de ensaio, C2 é o hematócrito pretendido (20% ou 30%) e V2 é o volume final no tubo de ensaio (volume de solução de lactato de Ringer a ser acrescentado é igual ao volume final menos o volume de sangue inicial). Do volume final de sangue obtido após a hemodiluição *in vitro* nos dois hematócritos desejados, colheu-se amostra para a realização dos seguintes exames: tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA), tempo de trombina (TT) e quantificação do fibrinogênio.

Foram colhidas da artéria radial do paciente amostras de sangue para a realização de exames laboratoriais (gasometria arterial, lactato plasmático, hemoglobina, hematócrito, contagem de plaquetas, sódio plasmático, potássio plasmático, cálcio plasmático e glicemia) para controle do paciente e, para a avaliação da hemostasia, os seguintes exames: contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA), tempo de trombina (TT) e quantificação do fibrinogênio nos momentos M1 – após a indução anestésica e antes da hemodiluição *in vivo*; M2 – 20 minutos depois de se atingir o hematócrito de 30% e M3 – 20 minutos depois de se atingir o hematócrito de 20%. As amostras de sangue foram encaminhadas ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto tão logo foram colhidas e as amostras para a realização dos exames referentes à coagulação foram armazenadas em tubo plástico com citrato a 3,2% e mantidas em recipiente com gelo até o encaminhamento ao Laboratório de Hemostasia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. No Laboratório de Hemostasia, as amostras foram armazenadas e todos os testes foram processados em uma mesma ocasião.

Foram anotados os eventos adversos que ocorreram durante todo o período de internação de cada paciente. Foram considerados eventos adversos: disritmias cardíacas, hipotensão ou hipertensão arterial, plaquetopenia e edema agudo de pulmão.

O tamanho da amostra foi calculado para um poder do teste de 80%, a fim de detectar diferenças de 20% na quantificação

do TP e do TTPA. Utilizou-se, para o cálculo, o desvio-padrão de trabalhos semelhantes para essas variáveis^{6,19}. Os dados obtidos foram expressos como média, desvio-padrão (Dp) e mediana. Estabeleceu-se, em todas as comparações, o nível de significância crítico de 5% (p < 0,05). A comparação entre os momentos de cada modelo foi feita para os dados paramétricos e com distribuição normal pela Análise de Variância de medidas repetidas e posteriores comparações múltiplas, quando indicado, pelo teste de Student-Newman-Keuls. Quando os dados não apresentaram distribuição normal, utilizou-se o teste de Friedman seguido do teste de Dunn para as comparações múltiplas. A comparação entre os grupos foi feita pelo teste *t* de Student (dados com distribuição normal) ou pelo teste de Mann-Whitney (dados sem distribuição normal).

RESULTADOS

Na Tabela I, estão demonstrados os dados demográficos dos 13 pacientes participantes do estudo.

Quanto ao estado físico, 10 pacientes foram classificados como ASA I e três pacientes como ASA II. Esses três pacientes ASA II apresentavam hipertensão arterial, mas estavam com a pressão arterial controlada por medicamentos no período pré-operatório imediato. Sete pacientes foram submetidos à artrodese de coluna, três à prostatectomia oncológica, dois à cirurgia ortognática e um à nefrectomia.

Houve apenas uma complicação. Um dos pacientes ASA II, com 64 anos, apresentou arritmia pouco depois do término da cirurgia. Foi medicado, permaneceu intubado por mais 6 horas na Unidade de Terapia Intensiva e, quando houve melhora do quadro clínico, foi extubado. Permaneceu na Unidade de Terapia Intensiva durante 24 horas.

Para obtenção do hematócrito de 30%, foram retirados 1158,15 ± 425,79 mL de sangue (mediana de 960 mL) e, para a obtenção do hematócrito de 20%, foram retirados 2.211,31 ± 726,22 mL (mediana de 2.160 mL). Os valores do hematócrito antes da hemodiluição e após a obtenção dos hematócritos de 30% e 20% estão representados na Tabela II.

Houve diminuição da pressão arterial sistólica em M2 e M3 em relação a M1 (p < 0,05), mas não houve diferença

Tabela I – Dados Demográficos

	Peso (kg)	Idade (anos)
Média	65,62	39,85
Desvio-padrão	15,51	18,39
Mediana	64	32
Valor máximo	90	68
Valor mínimo	46	16

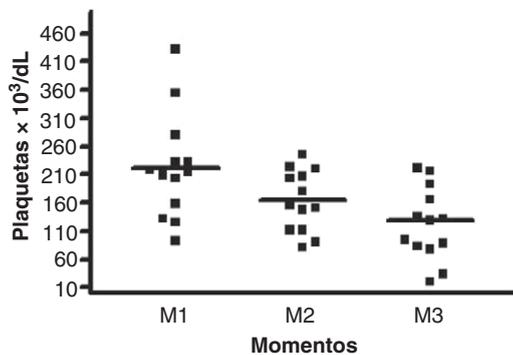
Tabela II – Valores do Hematócrito (em %), nos Três Momentos

	M1	M2	M3
Média	39,36	25,95	21,85
Desvio-padrão	3,27	4,34	5,21
Mediana	40	26	21
Valor máximo	45	33	34
Valor mínimo	36	18	15

estatística entre M2 e M3. As demais variáveis hemodinâmicas (pressão arterial diastólica, pressão arterial média e frequência cardíaca) apresentaram semelhança estatística em todos os momentos. A temperatura diminuiu após a primeira fase da hemodiluição ($p < 0,5$), mas retornou aos valores iniciais após o término da segunda fase da hemodiluição (M3).

Nenhum paciente, em quaisquer dos três momentos em que foi feita a avaliação, apresentou PaO_2 inferior a 90 mmHg. Não houve alteração estatística significativa do pH e da $PaCO_2$ nos três momentos. O excesso de base apresentou valor mais negativo em M3 e houve diferença estatisticamente significativa em relação a M1. Entre M1 e M2 não houve diferença estatística. O lactato plasmático aumentou em M2 e M3 e houve diferença estatística em relação a M1. Não houve diferença entre M2 e M3. O cálcio iônico aumentou em M2 e foi diferente de M1, mas não de M3.

A hemodiluição provocou redução acentuada do número de plaquetas em M2 e M3 (Figura 1).



Teste estatístico: análise de variância
 $p < 0,05^*$
 Comparações múltiplas: Teste Student - Newman-Keuls
 M1 vs M2 $p < 0,05^*$
 M1 vs M3 $p < 0,05^*$
 M2 vs M3 $p < 0,05^*$

Figura 1 – Valores da Contagem de Plaquetas durante o Processo de Hemodiluição. A barra horizontal representa a média dos valores em cada momento.

O comportamento dos testes da hemostasia pode ser visto na Tabela III.

Na hemodiluição *in vivo*, o TP aumentou e o fibrinogênio diminuiu em M2 e M3 (Análise de Variância – $p < 0,5$) e $M1 \neq M2 \neq M3$ ($p < 0,05$, comparações múltiplas – Teste Student-Newman-Keuls). O comportamento do TTPA e do TT foi semelhante. Houve aumento em M2 e M3 ($p < 0,05$ – Teste de Friedman), mas as comparações múltiplas (Testes de Dunn) indicaram $M1 = M2$, $M1 \neq M3$ e $M2 = M3$.

Na hemodiluição *in vitro*, o TP aumentou ($p < 0,05$ – Análise de Variância), mas o comportamento diferiu daquele apresentado *in vivo*. As comparações múltiplas (Teste Student-Newman-Keuls) indicaram $M1 = M2$, $M1 \neq M3$ e $M2 \neq M3$. O comportamento do fibrinogênio *in vitro* foi superponível ao apresentado *in vivo*. O comportamento do TTPA *in vitro* também foi superponível ao apresentado *in vivo*. O TT aumentou em M2 e M3 e as comparações múltiplas (Teste de Dunn) indicaram $M1 = M2$, $M1 \neq M3$ e $M2 \neq M3$.

As comparações entre os testes colhidos da hemodiluição *in vivo* e da hemodiluição *in vitro* podem ser vistas nas Figuras 2, 3, 4 e 5.

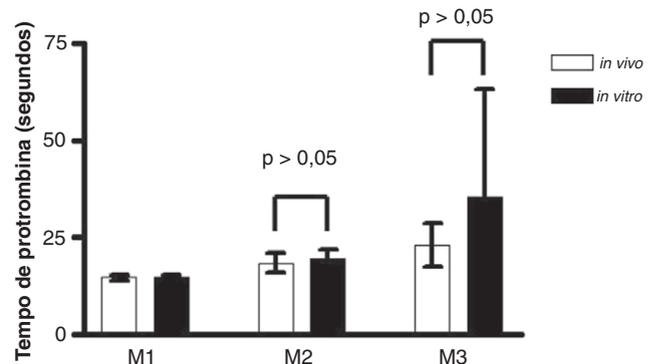


Figura 2 – Comparação entre Tempo de Protrombina (TP) *In Vivo* e *In Vitro*.

Tabela III – Valores do TP, TTPA, TT e Fibrinogênio nas Hemodiluições *In Vivo* e *In Vitro*.

	M1		M2		M3	
	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
TP (s)						
Média	14,68	14,68	18,41	19,46	23,12	35,5
Desvio-padrão	0,67	0,67	2,41	2,47	5,56	27,64
Mediana	14,9	14,9	17,7	20,2	22,7	26,8
TTPA (s)						
Média	43,48	43,48	54,3	52,99	65,5	81,8
Desvio-padrão	25,88	25,88	32,67	21,31	42,03	44,77
Mediana	35,8	35,8	42,3	50,1	52,7	73,9
TT (s)						
Média	16,76	16,76	25,52	21,65	63,62	40,19
Desvio-padrão	2,22	2,22	29,55	15,61	86,27	60,61
Mediana	16,7	16,7	17,5	17,3	20,8	22
Fibrinogênio						
Média	226,2	226,2	114,6	134,2	106,4	92,31
Desvio-padrão	38,08	38,08	26,87	40,12	35,82	35,65
Mediana	214	214	152	131	94	79

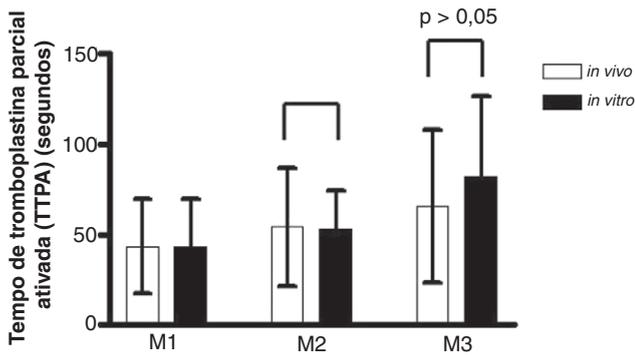


Figura 3 – Comparação entre Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) *In Vivo* e *In Vitro*.

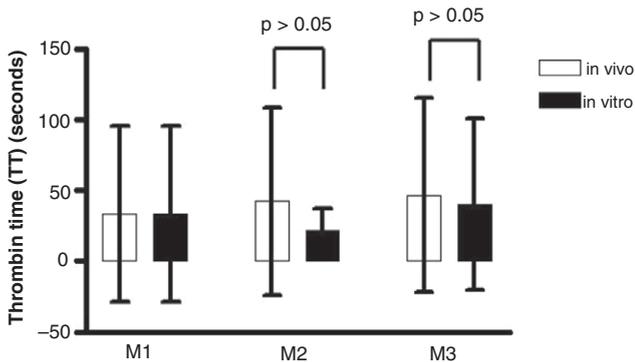


Figura 4 – Comparação entre Tempo de Trombina (TT) *In Vivo* e *In Vitro*.

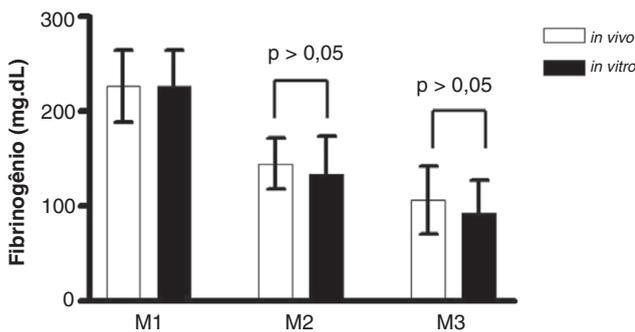


Figura 5 – Comparação entre Fibrinogênio *In Vivo* e *In Vitro*.

DISCUSSÃO

Apesar dos inúmeros estudos tanto *in vitro* quanto *in vivo* sobre as alterações qualitativas e quantitativas da hemostasia após hemodiluição, algumas dúvidas ainda permanecem e são decorrentes dos resultados discrepantes entre os trabalhos. Com o intuito de dirimir algumas dessas dúvidas, neste estudo cada paciente foi utilizado como seu próprio controle e utilizou-se o mesmo tipo de líquido para a manutenção da volemia. O cálculo do volume de sangue a ser removido para se atingir o hematócrito desejado foi feito pela fórmula de Gross¹⁴, mas nem todos os pacientes atingiram o alvo pretendido (Tabela II) já que, do ponto de vista prático, não é fácil concatenar a velocidade de infusão com a velocidade

de retirada. Além disso, o valor do hematócrito pode variar em decorrência das adaptações do organismo à hemodiluição¹⁶. Isso deveria estar minimizado pela adoção de tempos de espera semelhantes para a coleta dos exames e de se terem colhido os exames antes que hemodiluições adicionais ocorressem devido a sangramento intraoperatório. Na hemodiluição *in vitro*, os valores-alvo de hematócrito foram atingidos, haja vista a inexistência de mecanismos compensatórios e a praticidade da execução. Utilizaram-se, como critério de seleção dos pacientes, a submissão a cirurgias com grande sangramento potencial e a ausência de distúrbio da hemostasia. Apesar disso, os exames colhidos no momento M1 indicaram grande variabilidade de resultados, sobretudo quanto ao TTPA. Foram selecionados apenas pacientes ASA I ou II para que suportassem a hemodiluição profunda (20%). A idade não foi um fator limitante para a seleção, já que mesmo pacientes com idade superior a 60 anos podem suportar esse procedimento¹⁷. Pacientes com maior peso necessitam de retirada de volume de sangue maior para a obtenção do hematócrito desejado. Dessa forma, é mais fácil de se obterem nesses pacientes discrepâncias em relação ao cálculo formulado por Gross.

A reposição volêmica foi feita com a solução de lactato de Ringer e nenhum colóide (amido ou gelatina) foi administrado antes da coleta dos exames. Boldt e col. (2002)¹⁸ em um estudo *in vivo*, mas com pacientes não hemodiluídos, demonstraram que pacientes hidratados com solução salina ou com solução de lactato de Ringer não apresentaram diferença quanto à hemostasia avaliada por tromboelastografia. Acidose foi presenciada com maior frequência no grupo que recebeu solução salina. Ng, Lam e Chan¹⁹, com a utilização de solução salina e avaliação por meio da tromboelastografia, encontraram um estado de hipercoagulabilidade nos pacientes hemodiluídos para hematócrito de 30%. Atribuíram esse efeito à diminuição da antitrombina III e à manutenção do complexo trombina-antitrombina, o que pode ter favorecido a geração de trombina. Deve-se enfatizar que a geração de trombina é a reação bioquímica central na hemostasia normal e na trombose²⁰. Outros autores^{6,21-23}, com a utilização da tromboelastografia, encontraram tanto *in vivo* quanto *in vitro* os mesmos resultados. Egli e col.¹¹ também acreditam que a causa do estado de hipercoagulabilidade é um desequilíbrio entre os fatores pró-coagulantes e os fatores anticoagulantes naturais, sendo a proteína C e a antitrombina III mais sensíveis à diluição. Questiona-se ainda se o estado de hipercoagulabilidade é provocado mesmo pela hemodiluição moderada, já que se observou estado semelhante em pacientes durante a preparação para a realização de anestesia regional, mesmo antes da infusão de qualquer fármaco ou solução intravenosa²⁴.

Uma das críticas ao trabalho de Ng, Lam e Chan¹⁹ é que a reposição com solução salina produziu mais um estado de hipovolemia do que propriamente um estado de hemodiluição, o que pode favorecer o estado de hipercoagulabilidade. É possível que, no presente trabalho, os pacientes não tenham experimentado um estado de hipovolemia, embora não tenha sido monitorada a pressão venosa central (PVC) na maioria dos casos. Seria interessante ter medido a PVC, mas a pun-

ção de uma veia central não seria justificável em alguns dos pacientes selecionados para o estudo.

A maioria dos estudos que avaliam a hemostasia durante hemodiluição *in vivo* utiliza graus moderados de hemodiluição (hematócrito próximo a 30%), e a maior parte, com graus mais profundos de hemodiluição (hematócrito próximo de 20%), utilizam modelos *in vitro*²⁵. Considerando que apenas hemodiluições profundas evitam a transfusão alogênica, é interessante avaliar esse grau de hemodiluição na hemostasia. Singbartl e col.⁴, por meio de modelo matemático, demonstraram que, durante a hemodiluição profunda, a hemostasia se degenera antes da oferta de oxigênio aos tecidos, ou seja, o fator limitante para a hemodiluição não seria a função respiratória dos glóbulos vermelhos, mas sim a alteração da hemostasia acarretada pela diluição das plaquetas e dos fatores de coagulação. Da mesma forma, a redução isolada do hematócrito nos pacientes que mantêm valores normais de plaquetas e fatores de coagulação não deve constituir indicação para a transfusão sanguínea, contrariando os que defendem a manutenção do hematócrito em pelo menos 30% para não piorar a hemostasia²⁶.

A manutenção da volemia nos pacientes hemodiluídos é de fundamental importância para se evitem transtornos metabólicos. Neste estudo, os pacientes se mantiveram, do ponto de vista hemodinâmico, estáveis durante todo o período de avaliação. O excesso de base e o lactato plasmático apresentaram, sobretudo em M3, modificação em relação a M1, o que pode indicar algum grau de sofrimento tecidual. É pouco provável que isso tenha acontecido e que tenha afetado a hemostasia, já que os outros parâmetros mantiveram se estáveis, inclusive os hemodinâmicos.

A hipotermia combinada com acidose piora a coagulação sanguínea²⁷. Apesar dos cuidados para se evitar hipotermia, nossos pacientes apresentaram diminuição da temperatura corporal em M2 e esses valores voltaram aos valores pré-diluição em M3. O curto período de hipotermia não foi suficiente para acarretar alteração substancial na hemostasia. O processo da hemodiluição planejada é diferente do da hemodiluição decorrente de trauma e grande perda volêmica²⁸. Na hemodiluição planejada, a volemia e a temperatura são mantidas e não há grande consumo de plaquetas e de fatores de coagulação.

Moor, Woolley e Midwinter²⁹ defendem que a tromboelastografia e a tromboelastometria são mais adequadas para avaliar a coagulação sanguínea do que os testes convencionais. Referem que a depleção dos fatores de coagulação e fibrinólise devem ter contribuição significativa na percepção das coagulopatias. Eles referem que essas técnicas permitem monitoração acurada da coagulação sanguínea como um todo e particularmente em situações em que os testes convencionais não se mostram tão sensíveis. No entanto, Horlocker e col.³⁰ avaliaram a precisão dos testes de coagulação na indicação das transfusões em pacientes submetidos à artrodesse de coluna e concluíram que tanto o TP quanto o TTPA são bons orientadores na decisão e na indicação de transfusão de hemocomponentes. Neste estudo, foram utilizados apenas os métodos disponíveis na rotina de nosso hospital, ou seja, TP, TTPA, TT e a quantificação do fibrinogênio.

O TP é específico para a avaliação da via extrínseca da coagulação e sensível à diminuição do fator VII, porém se encontra prolongado também nas deficiências de fator II, V e X, bem como nas doenças hepáticas e na deficiência de vitamina K. Pode ser expresso como RNI (Razão Normalizada Internacional) obtido pela relação entre o TP do paciente e o TP do controle que é específico a cada reagente ou em segundos. Neste trabalho, o TP foi expresso em segundos, pois todos os testes foram realizados no mesmo dia com o mesmo reagente. O TTPA avalia a via intrínseca da coagulação. Todos os fatores pró-coagulantes são mensurados por esse teste, exceto os fatores VII e XIII. O TTPA é particularmente útil na monitoração da terapêutica com heparina e na determinação de deficiências de fatores IX e VIII. O TT mede o tempo de conversão do fibrinogênio em fibrina, última fase da coagulação, e está aumentado nas hipofibrinogenemias ou disfibrinogenemias. Já o fibrinogênio encontra-se diminuído nos pacientes com coagulação intravascular disseminada, nos pacientes submetidos a grandes cirurgias e nos portadores de neoplasias disseminadas³¹.

Neste trabalho, tanto a hemodiluição moderada quanto a hemodiluição profunda produziram piora da coagulação sanguínea. Ocorreu trombocitopenia e, em alguns pacientes, a contagem de plaquetas esteve abaixo de 50.000 por dL. Houve aumento do TP, do TTPA e do TT e diminuição da concentração de fibrinogênio. Do ponto de vista clínico, não é possível dizer se as alterações desses exames produziram alguma modificação no resultado cirúrgico no tocante à produção de maior sangramento intra-operatório. O comportamento dos exames laboratoriais foi semelhante entre a hemodiluição *in vivo* e a diluição *in vitro*, exceto para o tempo de protrombina durante a hemodiluição profunda. Esse comportamento semelhante foi surpreendente, pois o esperado é que a diluição no tubo de ensaio, por conta da inexistência de mecanismos compensatórios, apresentasse resultados mais largamente alterados em relação aos testes de coagulação da hemodiluição realizada *in vivo*.

Em conclusão, os testes de rotina para avaliação da coagulação indicam que, quanto maior for o grau de hemodiluição, maior será o comprometimento da coagulação, apresentando comportamento semelhante quando a hemodiluição é realizada *in vivo* ou *in vitro*, o que facilita a realização de testes com novas soluções para reposição volêmica, pelo menos durante as hemodiluições moderadas.

REFERÊNCIAS / REFERENCES

01. Bryson GL, Laupacis A, Wells GA – Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. *Anesth Analg*, 1998;86:9-15.
02. Goodnough LT – Acute normovolemic hemodilution. *Vox Sanguinis*, 2002;83(Suppl 1):211-215.
03. Crystal GJ, Salem MR – Hemodynamic compensation during acute normovolemic hemodilution. *Anesthesiology*, 2004;100:1034.
04. Singbartl K, Innerhofer P, Radvan J et al. – Hemostasis and hemodilution: a quantitative mathematical guide for clinical practice. *Anesth Analg*, 2003;96:929-935.
05. Petroianu GA, Liu J, Maleck WH et al. – The effect of *in vitro* hemodilution with gelatin, dextran, hydroxyethyl starch, or Ringer's solution on thrombelastograph. *Anesth Analg*, 2000;90:795-800.

06. Ruttman TG, James MFM, Aronson I – In vivo investigation into the effects haemodilution with hydroxyethyl starch (200/0.5) and normal saline on coagulation. *Br J Anaesth*, 1998;80:612-616.
07. Jones SB, Whitten CW, Despotis GJ et al. – The influence of crystalloid and colloid replacement solutions in acute normovolemic hemodilution: a preliminary survey of hemostatic markers. *Anesth Analg*, 2003;96:363-68.
08. McLoughlin TMJ, Fontana JL, Alving B et al. – Profound normovolemic hemodilution: hemostatic effects in patients and in a porcine model. *Anesth Analg*, 1996;83:459-465.
09. Konrad C, Markl T, Schuepfer G et al. – The effects of in vitro hemodilution with gelatin, hydroxyethyl starch, and lactated Ringer's solution on markers of coagulation: an analysis using SONOCLOT. *Anesth Analg*, 1999;88:483-488.
10. Roche AM, James MFM, Grocott MPW et al. – Citrate blood does not reliably reflect fresh whole blood coagulability in trials of in vitro hemodilution. *Anesth Analg*, 2003;96:58-61.
11. Egli GA, Zollinger A, Seifert B et al. – Effect of progressive haemodilution with hydroxyethyl starch, gelatin and albumin on blood coagulation. *Br J Anaesth*, 1997;78:684-689.
12. Brazil EV, Coats TJ – Sonoclot coagulation analysis of in vitro haemodilution with resuscitation solutions. *J R Soc Med*, 2000;93:507-510.
13. Fries D, Innerhofer P, Klingler A et al. – The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: an in vitro study using thrombelastograph coagulation analysis (ROTEG). *Anesth Analg*, 202;94:1280-1287.
14. Gross JB – Estimating allowable blood loss: corrected for dilution. *Anesthesiology*, 1983;58:277-280.
15. Nelson CL, Fontenot HJ, Flahiff C et al. – An algorithm to optimize perioperative blood management in surgery. *Clin Orthop*, 1998;(357):36-42.
16. Brecher ME, Rosenfeld M – Mathematical and computer modeling of acute normovolemic hemodilution. *Transfusion*, 1994;34:176-179.
17. Vara-Thorbek R, Guerrero-Fernandez Marcote JA – Hemodynamic response of elderly patients undergoing major surgery under moderate normovolemic hemodilution. *Eur Surg Res*, 1985;17:372-376.
18. Boldt J, Haisch G, Suttner G et al. – Are lactated Ringer's solution and normal saline solution equal with regard to coagulation? *Anesth Analg*, 2002;94:378-384.
19. Ng KFJ, Lam CCK, Chan LC – In vivo effect of haemodilution with saline on coagulation: a randomized controlled trial. *Br J Anaesth*, 2002;88:475-480.
20. Ruttman TG, James MF, Lombard EM – Haemodilution-induced enhancement of coagulation is attenuated in vitro by restoring antithrombin III to pre-dilution concentrations. *Anaesth Intensive Care*, 2001;29:489-493.
21. Ruttman TG, James MF, Viljoen JF – Haemodilution induces a hypercoagulable state. *Br J Anaesth*, 1996;76:412-414.
22. Ruttman TG, James MF – Pro-coagulant effect of in vitro haemodilution is not inhibited by aspirin. *Br J Anaesth*, 1999;83:330-332.
23. Ruttman TG, Lemmens HJ, Mallott KA et al. – The haemodilution enhanced onset of coagulation as measured by the tromboelastogram is transient. *Eur J Anaesthesiol*, 2006;23:574-579.
24. Gorton H, Lyons G, Manraj P – Preparation for regional anaesthesia induces changes in thrombelastography – *Br J Anaesth*, 2000;84:403-404.
25. Roche AM, James MFM, Grocott MPW et al. – Citrate blood does not reliably reflect fresh whole blood coagulability in trials of in vitro hemodilution. *Anesth Analg*, 2003;96:58-61.
26. Iselin MB, Willmann PFX, Seifert B et al – Isolated reduction of haematocrit does not come with promise in vitro blood coagulation. *Br J Anaesth*, 2001;87:246-249.
27. Dirkmann D, Hanke AA, Görlinger K et al. – Hypothermia and acidosis synergistically impair coagulation in human whole blood. *Anesth Analg*, 2008;106:1627-1632.
28. Shaz BH, Dente CJ, Harris RS et al. – Transfusion management of trauma patients. *Anesth Analg*, 2009;108:1760-1768.
29. Moor P, Woolley T, Midwinter M – Coagulation tests in future studies: what to use? *Br J Anaesth*, 2009;102:716.
30. Horlocker TT, Nuttall GA, Dekutoski MB et al. – The accuracy of coagulation tests during spinal fusion and instrumentation. *Anesth Analg*, 2001;93:33-38.
31. Lourenço DM – Avaliação Laboratorial da Hemostasia. em: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R – Hematologia: Fundamentos e Prática. São Paulo, Atheneu, 2001;752-754.

Resumen: Souza MAB, Klamt JG, Garcia LV – Efecto de la Hemodilución Normovolémica Aguda en la Coagulación Sanguínea: Comparación entre los Tests Recolectados en un Modelo *In Vivo* y en un Modelo *In Vitro*.

Justificativa y objetivos: La Hemodilución normovolémica produce resultados conflictivos en la hemostasia, porque los trabajos se diferencian en cuanto al tipo de líquido utilizado, profundidad de la hemodilución, método utilizado para evaluar la hemostasia y forma de producir la hemodilución. El efecto de la hemodilución en la hemostasia puede depender de la forma como ella se realiza, si es en el modelo *in vivo* o en el modelo *in vitro*. El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar la hemostasia en los dos modelos, en dos diferentes grados de profundidad.

Método: Trece pacientes se sometieron a la hemodilución normovolémica aguda y el hematocrito fue reducido para 30% y 20%. La volemia se mantuvo con Ringer con lactato. Se recogieron muestras de sangre para evaluación de la hemostasia en los momentos M1 (antes de la Hemodilución, M2 20 minutos después de la obtención del hematocrito de 30%) y M3 (20 minutos después de la obtención del hematocrito de 20%). Antes de la Hemodilución, muestras de sangre se recogieron para la realización de la Hemodilución en un tubo de ensayo. Los grados de Hemodilución en el tubo de ensayo (*in vitro*) fueron los mismos que los producidos en los pacientes (*in vivo*). La hemostasia fue evaluada por medio de los tiempos de protrombina, tromboplastina parcial activado, trombina y de la cuantificación del fibrinógeno.

Resultados: El comportamiento de los tests que evaluaron la hemostasia fue idéntico en los dos modelos utilizados. Hubo un aumento del TP, del TTPA y del TT y una reducción de la concentración de fibrinógeno. Mientras mayor el grado de hemodilución, mayor el comprometimiento de la coagulación.

Conclusiones: El modelo *in vitro* puede reemplazar al modelo *in vivo* en la evaluación de la hemostasia durante la hemodilución normovolémica aguda.