**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**

ESCOLA DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**DOUTORADO**

LUANA ALVES TANNOUS

# BENEFÍCIO CLÍNICO, LABORATORIAL E HISTOLÓGICO DE UMA ESTRATÉGIA OTIMIZADA DE MANUTENÇÃO DO POTENCIAL DOADOR DE ÓRGÃOS – MODELO EXPERIMENTAL EM COELHOS

**CURITIBA**

**2019**

LUANA ALVES TANNOUS

# BENEFÍCIO CLÍNICO, LABORATORIAL E HISTOLÓGICO DE UMA ESTRATÉGIA OTIMIZADA DE MANUTENÇÃO DO POTENCIAL DOADOR DE ÓRGÃOS – MODELO EXPERIMENTAL EM COELHOS

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Pontifícia Universidade Católica do Paraná como requisito para obtenção do título de Doutor
**Orientador:** Prof. Dr. Luiz César Guarita-Souza

**CURITIBA**

**2019**

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Edilene de Oliveira dos Santos CRB 9 / 1636

Tannous, Luana Alves
T167b Benefício clínico laboratorial e histológico de uma estratégia otimizada de
2019 manutenção do potencial doador de órgãos-modelo experimental em coelhos /
Luana Alves Tannous ; orientador, Luiz César Guarita-Souza. -- 2019
94 f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, 2019
Inclui bibliografias

1. Morte encefálica. 2. Doação de órgãos, tecidos, etc. 3. Transplante de órgãos, tecidos, etc. 4. Doadores de órgãos, tecidos, etc. I. Guarita-Souza, Luiz César. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDD 20. ed. – 616.078

PUCPR

Pontifícia Universidade Católica do Paraná
**Escola de Medicina**
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

**ATA DA SESSÃO PUBLICA DE EXAME DE TESE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE DOUTORADO DA PONTIFICIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.**

Aos **31 dias do mês de julho de 2019 às 08:00,** realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese **"BENEFÍCIO CLÍNICO, LABORATORIAL E HISTOLÓGICO DE UMA ESTRATÉGIA OTIMIZADA DE MANUTENÇÃO DO POTENCIAL DOADOR DE ÓRGÃOS – MODELO EXPERIMENTAL EM COELHOS"** apresentado por **Luana Alves Tannous** para obtenção do título de Doutor; Área de concentração: Medicina e áreas afins.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

| MEMBROS DA BANCA | ASSINATURA |
|---|---|
| **Prof. Dr. Luiz Cesar Guarita Souza – Presidente - (PUCPR)** | |
| **Profa. Dra. Lúcia de Noronha – (PUCPR)** | |
| **Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha - (PUCPR)** | |
| **Profa. Dra. Cintia Magalhães Carvalho Grion (UEL)** | |
| **Prof. Dr. Glauco Adireno Westphal (Univille)** | |

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

**Prof. Dr. Luiz Cesar Guarita Souza** Conceito APROVADA

**Profa. Dra. Lúcia de Noronha** Conceito APROVADA

**Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha** Conceito APROVADA

**Profa. Dra. Cintia Magalhães Carvalho Grion** Conceito APROVADA

**Prof. Dr. Glauco Adireno Westphal** Conceito APROVADA

Parecer Final: APROVADA

Observações da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Cesar Guarita Souza
**Presidente da Banca Examinadora**

Profª Dra. Cristina Pellegrino Baena
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
PUCPR

Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena
**Coordenadora do PPGCS-PUCPR**

**DEDICATÓRIA**

*Ao homem da minha vida Francisco, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de incerteza, muito comuns para quem trilha novos caminhos.*

*Sem você nenhuma conquista valeria a pena!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, minha proteção e minha fortaleza, que me deu a saúde e a capacidade para eu pudesse me dedicar a esse trabalho.

A Pontificia Universidade Católica do Paraná, conceituada instituição de ensino da qual tenho grande orgulho de fazer parte, pelo incentivo e apoio aos seus docentes.

Aos meus pais, Nadir Alves Tannous e Luiz Antonio Tannous, pelo investimento incondicional na minha educação e na minha formação moral e ética.

Ao meu amado esposo, Francisco Polanski Cordeiro, pelo companheirismo e carinho, incentivo constante e auxílio técnico na condução desse estudo.

Ao Dr. Glauco Adriano Westphal, pelas ideias, sugestões e revisões ao longo do tempo, que tanto contribuíram para a qualidade técnica e validade do trabalho.

Ao Dr. Àlvaro Réa Neto, nome de destaque na Medicina Intensiva brasileira, chefe e conselheiro, que me orienta e me auxilia na carreira profissional desde a Residência Médica.

À Dra. Arlene Terezinha Cagol Garcia Badoch e a todos os membros do Sistema Estadual de Transplantes do Estado do Paraná, que por seu trabalho de excelência, me inspiraram na escolha de um tema de tamanha importância para a população.

Aos colegas médicos e equipe do CEPETI - Centro de Estudo e Pesquisa em Terapia Intensiva – pelo incentivo a pesquisa e qualificação dos seus membros.

Aos amigos Vanessa e Jeronymo Benoni, médicos veterinários e proprietários do Bionostic – Centro de Diagnósticos Veterinários, pela execução e análise dos exames laboratoriais, além das vibrações positivas dispensadas ao longo do estudo.

Ao Professor Sérgio Ossamu Ioshii e ao funcionário Seigo Nagashima do laboratório de Patologia da PUC PR, pela orientação na análise histopatológica deste estudo.

À graduanda de Medicina Tatiana Badotti, que auxiliou no manejo dos animais, demonstrando muita dedicação e carinho.

A Misael Gomes Barbosa, funcionário do laboratório de Técnica Operatória da PUC PR, que não mediu esforços para viabilizar o experimento. Obrigada Misael por sua dedicação e empenho!

À Dra. Cassiana Maria Garcez Ramos, que com sua diligência, tanto nos auxiliou nos primeiros passos do trabalho.

Agradeço especialmente ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz César Guarita Souza, pela confiança na minha capacidade e dedicação que entrega aos seus alunos.

## EPÍGRAFE

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| CPK | creatinofosfoquinase |
| FC | frequência cardíaca |
| $FIO_2$ | fração inspirada de oxigênio |
| IL-1 | interleucina 1 |
| IL-6 | interleucina 6 |
| ME | morte encefálica |
| NA | noradrenalina |
| PAM | pressão arterial média |
| PCR | proteína C reativa |
| PD | potencial doador de órgãos |
| PEEP | pressão positiva expiratória final |
| pmp | por milhão de população |
| Sat $O_2$ | saturação de oxigênio |
| TGO | transaminase glutâmico oxalacética |
| TGP | transaminase glutâmico pirúvica |
| TNF-α | fator de necrose tumoral alfa |

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Procedimento de indução da morte encefálica.

FIGURA 2 – Evolução dos dados vitais ao longo do tempo de observação.

FIGURA 3 – Variação dos dados laboratoriais entre o início e término do experimento

FIGURA 4 – Comparação dos dados histológicos entre os grupos.

FIGURA 5 – Imagem histológica do tamanho das células tubulares renais – comparação entre grupos.

FIGURA 6 - Imagem histológica do tamanho dos vasos cardíacos – comparação entre grupos.

FIGURA 7 - Imagem histológica do grau de esteatose hepática – comparação entre grupos

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Dados e análise estatística dos dados vitais

TABELA 2 – Dados e análise estatística das intervenções hemodinâmicas

TABELA 3 – Dados e análise estatística dos dados laboratoriais

TABELA 4 – Dados e análise estatística dos parâmetros histológicos

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Anexo 1 – Parecer do CEUA (Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais)

Anexo 2 – Artigo submetido para publicação

## RESUMO

**Introdução**: A maioria dos órgãos transplantados vem de doadores em morte encefálica (ME). O processo de ME causa uma grande descarga simpática e inflamatória, resultando em disfunção orgânica do doador e maiores índices de rejeição do enxerto no pós-transplante.

**Objetivos**: Avaliar a repercussão clínica, laboratorial e histológica de três estratégias distintas de suporte hemodinâmico do potencial doador de órgãos na fase precoce após a indução da morte encefálica em um modelo animal.

**Material e Método**: Foram estudados 20 coelhos divididos em 4 grupos: A (controle), B (indução de ME + infusão de cristaloides), C (ME + infusão de cristaloides e noradrenalina (NA)), D (ME + infusão de cristaloide + vasopressina + levotiroxina + metilprednisolona + NA). Os animais foram monitorizados por quatro horas com medidas sucessivas de pressão arterial média, temperatura, frequência cardíaca e saturação de oxigênio. No início e final do experimento foram dosados lactato sérico, hemoglobina, transaminases, amilase, creatinofosfoquinase, sódio, potássio e glicemia. Após o término do estudo, coração, pulmões, fígado e rins foram retirados e analisados histologicamente.

**Resultados**: No grupo D observamos menor quantidade ($p$=0,032) e menor número de infusões hídricas ($p$=0,014) em comparação aos outros grupos intervenção. Os níveis de pressão arterial média foram maiores no grupo D em relação ao grupo B ($p$=0,008). O grupo D foi superior ao C no controle da glicemia ($p$=0,016). Houve aumento dos valores de sódio no grupo B em relação aos grupos C e D ($p$=0,021). No grupo D foi encontrada a menor altura média das células tubulares renais, a menor área média dos capilares cardíacos e a menor área média de esteatose hepática.

**Conclusões**: A estratégia otimizada de manejo clínico dos animais em ME (grupo D) associou-se com melhor controle hemodinâmico, da glicemia e da natremia, além de redução de sinais de isquemia precoces no coração, rins e fígado.

**Palavras-chave:** morte encefálica, potencial doador de órgãos, transplante.

## ABSTRACT

**Introduction**: The majority of transplanted organs are obtained from brain-dead (BD) donors. Sympathetic discharge and inflammation result in pre-transplant organ dysfunction and a higher rate of rejection.

**Objectives**: In this study, we evaluated the clinical, laboratorial and histological repercussion of three different hemodynamic control strategies of the potencial organ donor in the early stage after BD induction in an experimental model.

**Methods**: Twenty rabbits were divided into the following four groups: A (control), B (induction of BD + infusion of crystalloid if hypotension), C (BD + infusion of crystalloid and noradrenaline (NA) if hypotension), and D (BD + infusion of crystalloid + vasopressin + levothyroxine + methylprednisolone + NA if hypotension). The animals were monitored for four hours with consecutives analysis of mean arterial pressure (MAP), temperature, heart rate (HR) and oxygen saturation (Sat $O_2$). In the beginning and in the end of the experiment serum lactate, hemoglobin (HB), transaminases**,** amylase, creatin phosphokinase (CPK), sodium, potassium and glucosis were analysed. Heart, lungs, liver and kidneys were evaluated blindely by a Pathologist.

**Results**: In Group D (optimized Strategy), we observed fewer number ($p = 0.032$) and less volume of fluid infusions ($p = 0.014$) comparing with groups B and C. MAP levels were higher in group D in comparison with group B ($p = 0.008$). Group D had better glycemic control comparing with group C ($p = 0.016$). There was an increase in sodium values in group B in relation to groups C and D ($p = 0.021$). In Group D, the average size of renal tubular cells and cardiac vessel was smaller and the degree of steatosis was lower.

**Conclusion**: The optimized strategy of clinical management of BD animals (Group D) is associated with better hemodynamic, glycemic and natremia control, besides reducing early signs of ischemia of the heart, kidneys, and liver.

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO 23**

**2 JUSTIFICATIVA 25**

**3 OBJETIVO GERAL 26**

**4 REVISÃO DE LITERATURA 28**

**4.1 Diagnóstico de morte encefálica, doação de órgãos e transplantes 28**

**4.2 Fisiopatologia da disfunção orgânica na morte encefálica 31**

*4.2.1 Disfunção hemodinâmica e repercussão cardíaca* 16
*4.2.2 Resposta inflamatória de disfunção orgânica* 20
*4.2.3 Disfunção na produção e descontrole hormonal* 24
*4.2.4 Disfunção pulmonar e perda da regulação da temperatura corporal* 27

**4.3 Manutenção do potencial doador de órgãos 43**

**5 ARTIGO 23**

**6 CONCLUSÕES 55**

**7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 82**

**8 REFERÊNCIAS 84**

**9 MATERIAL SUPLEMENTAR 91**

**9.1 Anexo 1 – Parecer do CEUA (Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais)**

**9.2 Anexo 2 – Artigo submetido para publicação**

# 1. INTRODUÇÃO

A morte encefálica (ME) é estudada desde o século XIX, quando os primeiros cientistas observaram que a falência respiratória precedia a falência circulatória em pacientes com doença neurológica fatal. A ME foi definida em 1968, no comitê *ad hoc* da Universidade de Harvard, como “abolição da função do encéfalo, tronco e frequentemente da medula espinhal.”(1)

Em 1997, a Resolução 1480 do Conselho Federal de Medicina definiu morte encefálica como parada total e irreversível das funções encefálicas de causa conhecida e constatada de modo indiscutível, caracterizada por coma aperceptivo, com ausência de resposta motora supra-espinhal e apneia. (2)

O reconhecimento e a confirmação desse diagnóstico são de grande importância, uma vez que esses pacientes são candidatos à doação de órgãos para transplante. Assentindo com essa relevância, no final de 2017, foi publicado o Decreto Presidencial n° 9.175, que trata da disposição de órgãos, tecidos, células e partes do corpo humano para fins de transplantes e tratamento (3), e a Resolução 2173 do Conselho Federal de Medicina, que atualizou os critérios para diagnóstico da morte encefálica no Brasil. (4) A padronização desses critérios tornou o processo de diagnóstico ainda mais seguro, já que definiu pré-requisitos para a abertura e acrescentou a necessidade de capacitação médica, e mais rápido, uma vez que houve diminuição do tempo exigido entre as etapas do processo.

Há uma grande disparidade entre a lista de pacientes que necessitam de transplante de órgãos e a disponibilidade de órgãos para doação. Dados da Central Estadual de Transplantes do Paraná do mês de maio de 2019 apontam mil seiscentos noventa e seis pessoas na fila de espera por transplantes no Estado. (5)

Nesse contexto, nos deparamos com uma série de fatores que criam barreiras ao transplante de órgãos no Brasil e no mundo. Há condições referentes às equipes de saúde, como falta de uniformização de protocolos para o diagnóstico de ME, falta de reconhecimento dessa condição pelos próprios médicos e equipes de saúde e falha na manutenção clínica do potencial doador. Algumas condições são de aspectos sociais como religião, etnia, raça, condição socioeconômica da população e falta de acesso à informação. (6–8) O inadequado manejo do potencial doador de órgãos aumenta os índices de parada cardíaca antes da doação efetiva e

gera enxertos subótimos, impactando diretamente na quantidade de transplantes e no funcionamento do enxerto pós-transplante. (9)

Há poucas informações relevantes sobre a estratégia ideal de manutenção do potencial doador de órgãos, orientações formais ainda não são consistentes e não há uma homogeneidade no processo de manutenção. Ao mesmo tempo, há uma urgência na formalização desse processo, para que haja melhor cuidado do potencial doador, que pode resultar na maior disponibilidade de órgãos e maior sucesso no transplante. (10)

## 2. JUSTIFICATIVA

A oferta de órgãos para transplante é muito menor que a demanda dos potenciais receptores. Nesse cenário, todos os esforços para escolher a melhor conduta terapêutica com o potencial doador durante o processo de diagnóstico da morte encefálica são imprescindíveis.

Diversas opções de manejo hemodinâmico podem ser empregadas, porém, não se conhece as repercussões clínicas, laboratoriais e histológicas que essa escolha pode causar no enxerto, principalmente nas fases mais precoces do processo de morte encefálica.

Dessa forma, o estudo visou identificar qual estratégia de controle hemodinâmico do potencial doador levaria à melhor estabilidade clínica e menor repercussão isquêmica nos órgãos. A padronização dessa conduta pode refletir no aumento do número e na melhor qualidade dos enxertos para transplante.

## 3. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar a repercussão clínica, laboratorial e histológica de três estratégias distintas de suporte hemodinâmico do potencial doador de órgãos na fase precoce após a indução da morte encefálica em um modelo animal.

## 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a quantidade de fluido e o número de infusões necessárias para manter o controle hemodinâmico;

Analisar as mudanças laboratoriais (hemoglobina, sódio, glicemia, potássio, lactato, creatinofosfoquinase, transaminases, amilase) na fase precoce da morte encefálica;

Avaliar sinais precoces de isquemia no coração, pulmões, rins e fígado de animais submetidos à morte encefálica.

# 4. REVISÃO DE LITERATURA

## 4.1 Diagnóstico de morte encefálica, doação de órgãos e transplantes

Há grande variabilidade na definição do diagnóstico de ME ao redor do mundo. (8) Cada país tem autonomia para definição do protocolo que será utilizado para o diagnóstico em seu território (8), como os pré-requisitos para abertura, habilitação dos médicos envolvidos e exames complementares a serem realizados. Uma revisão publicada em 2014 discorreu sobre as barreiras para doação de órgãos ao redor do mundo. Os autores revisaram publicações de 1968 a 2014, incluindo artigos de revisão sistemática, estudos prospectivos, retrospectivos e relatos de caso, além de pesquisa adicional na internet. Identificou-se que a falta de padronização de critérios para o diagnóstico de ME e doação de órgãos contribuem para a perda de potenciais doadores. As maiores barreiras incluem a variabilidade legal e clínica do diagnóstico de ME, critérios diagnósticos com base legal inconsistente, barreiras raciais, éticas e religiosas, desconforto dos médicos em tratar do assunto e falta de conhecimento da comunidade sobre o processo de doação. Além disso, o autor refere que a limitada legislação internacional contribui para o dilema de tráfico de órgãos e conclui que há uma urgente necessidade de padronização dos critérios internacionais para diagnóstico de ME e doação de órgãos, para melhorar a regulação do processo e maximizar as taxas de transplantes. (8)

No Brasil, uma resolução recente do Conselho Federal de Medicina atualizou os critérios para definição da ME, que devem ser seguidos em todo território nacional. (4) O protocolo de diagnóstico de ME pode ser iniciado em pacientes em coma aperceptivo, com lesão neurológica comprovada, após um tempo mínimo de observação hospitalar de seis horas. Os pacientes também devem estar hemodinamicamente estáveis, sem hipóxia ou hipotermia e estarem livres da ação de drogas depressoras do Sistema Nervoso Central, como sedativos, e de bloqueadores neuromusculares. Os médicos envolvidos no processo não podem trabalhar em equipes transplantadoras e devem ter experiência clínica comprovada em tratamento de doentes em coma ou terem feito um curso de capacitação com conteúdo regulado pelo Conselho Federal de Medicina. (4)

O protocolo para diagnóstico de ME no Brasil é composto por dois exames clínicos, um teste de apneia e um exame complementar confirmatório. Os testes clínicos avaliam o coma e os reflexos de tronco encefálico e devem ser realizados por médicos capacitados diferentes, com um intervalo mínimo de uma hora entre eles. Os reflexos de tronco testados são o fotomotor, córneo-palpebral, óculo-cefálico, vestíbulo-calórico e tosse. Para ser compatível com ME, o exame clínico deve verificar três pontos na Escala de Coma de Glasgow e ausência de todos os reflexos de tronco encefálico. O teste de apneia estimula o centro respiratório por meio do aumento de gás carbônico sérico e será positivo caso não haja incursões respiratórias após um período de dez minutos em apneia, com um valor de gás carbônico sérico superior a 55 mmHg. Já o exame complementar deve demonstrar ausência de fluxo sanguíneo cerebral ou ausência de atividade elétrica encefálica e podem ser escolhidos arteriografia, doppler transcraniano, cintilografia ou eletroencefalografia. (4)

Essas normas de realização padronizaram e agilizaram o processo de diagnóstico de ME, tornando o protocolo extremamente seguro e confiável.

Nos últimos anos, o número de doações de órgãos vem aumentando progressivamente no Brasil. Segundo a Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, o número de doadores de órgãos efetivos no país subiu de 10,7 para 17,0 por milhão de população (pmp) entre os anos de 2011 e 2018. O número de transplantes realizados também vem apresentando crescimento relevante, porém, a necessidade estimada de órgãos para atender toda a população é superior às cirurgias realizadas e também cresceu nos últimos anos. (11)

No ano de 2018, a taxa de doadores efetivos cresceu apenas 2,4%, tendo passado de 16,6 pmp em 2017, para 17,0 pmp em 2018, 5,5% abaixo da taxa prevista (18,0 pmp) e esse aumento foi devido à elevação em 0,6% na taxa de notificação dos potenciais doadores, e em 2,2% na taxa de efetivação da doação. Entretanto, o crescimento da taxa de transplante de órgãos com doador falecido foi de somente 0,7%, tendo passado de 41,0 pmp para 41,3 pmp, revelando um aumento na taxa de não utilização dos órgãos dos doadores falecidos. (11)

Destacaram-se em 2018, com taxas de doação extraordinárias, acima de 40 pmp, os Estados do Paraná (47,7 pmp) e de Santa Catarina (41,0 pmp). O Estado do Paraná apresentou, também, uma taxa de notificação de potenciais doadores de 108 pmp, superior, inclusive, ao teto previsto (100 pmp). (5,11)

Entre os principais fatores que impactaram negativamente na doação de órgãos, a taxa de não autorização familiar manteve-se em 43%. As menores taxas foram registradas no Paraná, com apenas 27% e Santa Catarina (33%), e as maiores foram em Roraima (73%), Piauí (74%) e Mato Grosso (80%). O trauma crânio-encefálico ocasionou a morte encefálica em 33% dos doadores e, dessa forma, é a principal diagnóstico envolvido no processo. (11)

Analisando as regiões, observamos que o Sul, com 35,9 doadores pmp, obteve uma taxa duas vezes superior à do Brasil (17,0 pmp) e do Sudeste (18,3 pmp), três vezes superior à do Nordeste (10,8 pmp) e Centro-Oeste (12,0 pmp) e dez vezes acima da do Norte (3,6 pmp).

Com relação aos transplantes de órgãos, o Paraná foi o estado com maior destaque em 2018, pois realizou 90,9 transplantes pmp, seguido à distância por Pernambuco (69,2 pmp) e São Paulo (67,4 pmp), enquanto que no Brasil essa taxa foi de 41,9 pmp, distante da taxa prevista para o ano 2021 de 60 transplantes pmp. (5,11) Nos últimos seis anos, a taxa de transplante renal entre 2012 e 2018 manteve-se inalterada (28,5 pmp), mas o Estado do Paraná (60,4 pmp) realizou mais do que 50 transplantes renais pmp. A taxa de transplante hepático cresceu 15,4 % nesses seis anos, tendo passado de 9,1 pmp a 10,5 pmp. Os transplantes pulmonares aumentaram 50% entre 2013 e 2018, passando de 0,4 pmp para 0,6 pmp, muito abaixo da necessidade estimada (8 pmp) refletindo a falta de equipes de transplante. A taxa de transplante de pâncreas permaneceu estável (0,7 pmp) no período de 2011 a 2018. (11)

Mesmo com a posição de destaque no cenário nacional, o Estado do Paraná ainda encontra desafios importantes no processo de doação e transplante. Dados do Sistema Estadual de Transplantes mostram que no ano de 2018, 10% dos potenciais doadores apresentaram parada cardíaca antes da efetivação da doação, situação que pode refletir cuidados inadequados na manutenção clínica desses pacientes. Esse fator se torna relevante quando, mesmo tendo realizado 867 transplantes em 2018, a fila de espera por um órgão é crescente. (5)

## 4.2 **Fisiopatologia da disfunção orgânica na morte encefálica**

O transplante de órgãos é o tratamento de escolha para muitos pacientes com falência orgânica em estágio final de doença e seu número tem crescido anualmente. Entretanto muitos pacientes morrem na fila a espera de um órgão. Essa situação é agravada pelo fato de que 73 a 80% dos órgãos transplantados vêm de doadores em morte encefálica. (12)

A morte cerebral é fator de risco independente para disfunção orgânica no pré-transplante, o que pode diminuir o sucesso do procedimento em pacientes receptores desses órgãos. (13) Os distúrbios fisiológicos e a instabilidade hemodinâmica que ocorrem na ME são bem descritos e afetam a maior parte dos potenciais doadores de órgãos, fazendo que esses potenciais órgãos para transplantes se deteriorem. (12)

### *4.2.1 Disfunção hemodinâmica e repercussão cardíaca*

Após instituída uma lesão neurológica grave que causa a ME, inicia-se uma cascata de eventos, com a perda do controle regulatório neuro-hormonal central no eixo hipotálamo-hipófise e o aumento da atividade simpática. Esses eventos culminam na chamada “tempestade autonômica”, com desenvolvimento de hipertensão intracraniana grave. Esse período é caracterizado por hipertensão sistêmica grave (crise hipertensiva) e taquicardia. Todo esse processo leva à isquemia e herniação cerebral, com instabilidade hemodinâmica. A instabilidade hemodinâmica desencadeia isquemia orgânica, com o metabolismo se transformando de aeróbio para aneróbio. Subsequentemente ocorre vasodilação, com frequente hipovolemia, disfunção cardíaca e colapso hemodinâmico. (14,15)

A queda da função cardíaca pós-ME é conhecida e multifatorial. Grande parte dessa perda de função é atribuída à cardiotoxicidade das catecolaminas que ocorrem durante a tempestade autonômica. Além disso, a vasodilatação grave que decorre da ME contribui para a redução da perfusão coronariana, que quando associada a hipovolemia relativa, leva à diminuição da pré-carga e do débito cardíaco. (14)

Um estudo experimental em cães realizado em 1995, avaliou os aspectos hemodinâmicos, a bomba e a função muscular cardíaca e parâmetros hormonais em

10 animais submetidos a morte encefálica, comparando-os com 4 cães que serviram de controle. O período de observação de ambos os grupos foi de 300 minutos. A estabilidade hemodinâmica dos pacientes foi mantida com a infusão de cristalóides, sem o uso de inotrópicos ou vasopressores. No período da fase hiperdinâmica aguda, cerca de quinze minutos após a indução da ME, os animais apresentaram elevação da frequência cardíaca (FC), função ventricular esquerda, débito cardíaco e contratilidade miocárdica. Numa fase subsequente, cerca de 1 hora após a ME, os parâmetros retornaram ao normal, exceto a FC, que permaneceu 50% acima do normal, e a resistência vascular sistêmica, que se mostrou cerca de 40% inferior ao normal. Na fase tardia da ME, no final do experimento, pressões de enchimento, pressão de enchimento do ventrículo esquerdo e débito cardíaco permaneceram dentro dos limites normais, com contratilidade e resistência vascular sistêmica com tendência a queda progressiva. Dessa forma, foi comprovada que a lesão neurológica irreversível causa alterações hemodinâmicas relevantes. (16)

No ano anterior, em 1994, um estudo em porcos avaliou as alterações metabólicas e hemodinâmicas no modelo animal de ME. Oferta de oxigênio, consumo de oxigênio e conteúdo arterial de lactato foram medidos em suínos com morte encefálica e controles na ausência de qualquer suporte inotrópico ou fluido. A medida dos níveis do peptídeo natriurético atrial seriada foi realizada para avaliar as alterações concomitantes que ocorrem na função endócrina do coração. Um aumento significativo da frequência cardíaca, pressão capilar pulmonar, débito cardíaco, pressão arterial média, e entrega sistêmica de oxigênio, foi observado após a indução da morte encefálica. Estes parâmetros retornaram abaixo dos valores basais dentro de 60 min. Pelo contrário, o lactato sérico e o consumo de oxigênio permaneceram inalterados. Após a expansão do volume, porcos com morte cerebral exibiram resposta hemodinâmica comprometida, com uma diminuição significativa da oferta de oxigênio. Essas alterações foram acompanhadas por uma diminuição significativa no consumo de oxigênio e um aumento significativo nos níveis plasmáticos de lactato. Ao mesmo tempo, um aumento semelhante na liberação de peptídeo natriurético atrial foi observado em ambos os grupos em resposta à expansão de volume, sugerindo que, apesar da contratilidade miocárdica comprometida, a função endócrina do coração foi preservada após a morte encefálica. Concluiu-se que a morte encefálica leva ao prejuízo da contratilidade ventricular esquerda de forma precoce, o que poderia ser responsável pelas

alterações observadas no metabolismo aeróbico a anaeróbico em resposta à rápida infusão de volume. Esses resultados sugeriram que o uso de infusão de fluidos para reduzir a necessidade de suporte inotrópico deve ser feito com cuidado no manejo de um potencial doador de órgãos com morte cerebral. (17)

Szabo G. e colaboradores fez vários trabalhos experimentais consecutivos estudando as repercussões hemodinâmicas e cardíacas da morte encefálica. (18–24) Uma de suas preocupações era sobre a capacidade do receptor em conseguir compensar as disfunções do ventrículo direto potencialmente existentes no doador, imaginando impacto na morbimortalidade pós-transplante. Em um de seus estudos em 1998, foram estudados os efeitos da ME sobre a função do ventrículo direito e a adaptação do ventrículo direito ao progressivo aumento da pós-carga. Treze cães foram anestesiados, 8 submetidos a ME e 5 controles. Foram avaliados FC, pressões sistólica e diastólica do ventrículo direito, pressão da artéria pulmonar e débito cardíaco. Poucos minutos após a ME, se observou aumento significativo de todos os parâmetros quando comparados ao grupo controle. Entre 15 e 60 minutos, os parâmetros retornaram ao basal e permaneceram estáveis, até completar 2 horas de experimento. Após esse período, houve aumento progressivo da pós-carga, mas a função global do ventrículo direito e o débito cardíaco não se mostraram diferentes nos dois grupos. Conclui-se que a ME não resulta numa perda de função aguda do ventrículo direito e que ocorre uma adaptação ao aumento da pós-carga por meio do aumento do débito cardíaco. (18)

No mesmo ano, o autor realizou novo estudo experimental com 12 cães para analisar de forma independente a função cardíaca pós-ME. O foco foi a possível interação entre a ME e a preservação da função cardíaca pós-isquêmica. Após 2 horas de observação pós-ME, os animais foram submetidos a preservação isquêmica hipotérmica, por 4 horas a 4 °C. Foram avaliados FC, débito cardíaco, pressão ventricular esquerda e pressão aórtica. Concluiu-se que a ME leva a efeitos hemodinâmicos importantes, que podem levar a dano irreversível no miocárdio e disfunção cardíaca primária. Entretanto, não se demonstrou evidência que a preservação isquêmica foi benéfica. (19)

Na mesma linha de pesquisa, novo estudo avaliou a influência da morte encefálica e da preservação cardíaca na função sistólica e diastólica e na circulação coronariana, em um modelo experimental com cães. Foi demonstrado que a disfunção miocárdica pós-ME não é irreversível e que é secundária e uma série de

condições e que a recuperação da função cardíaca após a preservação hipotérmica não é prejudicada pelas mudanças hemodinâmicas causadas pela ME. (20)

No mesmo ano de 1999, o autor estudou se a modulação da pressão de pefusão coranariana poderia reverter a disfunção cardíaca induzida pela ME. O modelo experimental com cães perfundiu separadamente as coronárias dos animais com o próprio sangue por uma bomba acoplada à pressão aórtica. Foi avaliada a contratilidade miocárdica. Após a ME, verificou-se transitória resposta hiperdinâmica, seguida por diminuição da resistência vascular sistêmica e fluxo sanguíneo coronário. Entretanto, se a pressão de perfusão coronariana for desacoplada da pressão aórtica e elevada nos modelos pós-ME, o fluxo coronariano é restabelecido aos níveis basais. Desa forma, postulou-se que o fluxo coronariano diminuído contribui para a disfunção contrátil cadíaca pós-ME e que a modulação desse fluxo pode preservar a contratilidade cardíaca. (21)

A repercussão endotelial na função cardíaca pós-ME também foi estudada pelo autor. Em um experimento com 6 animais, o fluxo coronariano foi medido por ultrassom e a vasodilatação endotelial foi induzida pela aplicação de acetilcolina e nitroprussiato. Verificou-se que a ME leva à deterioração hemodinâmica relacionada a diminuição da pós-carga e subsequentemente, a queda do fluxo coronariano. Além disso, a ME causa disfunção endotelial grave e pode contribuir para acelerar a rejeição do enxerto. (22)

Em um modelo animal com cães no ano de 2001, o autor novamente estudou se parâmetros de função cardíaca poderiam se alterar com a morte encefálica. Demonstrou-se que as pressões de carga e de perfusão coronariana foram mantidas constantes. Na discussão, o autor concluiu que o fato de que nenhuma disfunção cardíaca ocorrera, que as condições de carga, a relação de acoplamento ventrículo-arterial e eficiência mecânica permanecerem constantes no modelo animal intacto, indicam que a contratilidade diminuída reflete a diminuição da elastância arterial após a morte encefálica. Portanto, a redução da função contrátil após a morte encefálica em uma pós-carga diminuída pode contribuir para a otimização do trabalho cardíaco. Além disso, a perda da reserva de autorregulação dos vasos coronários e a consequente hipoperfusão, provavelmente contribue para a deterioração da função cardíaca em pacientes hipotensos pós-ME. (23)

Finalmente em 2002 o autor publicou mais um artigo seguindo a mesma linha de investigação. O fluxo coronariano e função cardíaca esquerda foram

moritorizados e vasodilação endotelial foi induzida. O autor concluiu que a ME afeta a circulação coronariana de duas formas: diminuição do fluxo coronariano em decorrência do aumento da pós-carga e consequente deterioração hemodinâmica e por disfunção endotelial grave, que pode contribuir como fator prognóstico no pós-transplante. (24)

Agravando ainda mais o descontrole hemodinâmico, pacientes pós-ME são de grande risco para hipovolemia. O uso de drogas diuréticas no tratamento da hipertensão intracraniana associado à poliúria causada pela diabetes insipidus e queda da resistência vascular sistêmica, levam a diminuição do volume circulante efetivo e hipoperfusão orgânica. (9,14,25)

Essa instabilidade hemodinâmica grave está associada à diminuição da pressão de perfusão e fluxo sanguíneo para os órgãos, levando a falência orgânica e uma intensa atividade inflamatória. (15)

### *4.2.2 Resposta inflamatória de disfunção orgânica*

Um estudo observacional prospectivo realizado com 21 potenciais doadores de órgãos entre os anos de 2006 e 2007 monitorizou a função hemodinâmica utilizando técnicas de contorno de pulso e avaliou níveis plasmáticos de TNF, IL-6 e interleucina 10. As variáveis inflamatórias foram mensuradas 4 horas após a inclusão no estudo e imediatamente antes da captação dos órgãos. Os níveis de citocinas foram significativamente superiores nos pacientes que eram responsivos a volume. Por regressão estatística, verificou-se que esses pacientes hipovolêmicos forneceram menor número de órgãos para transplante. Concluiu-se que a responsividade a volume, e consequentemente a hipovolemia, é comum em potenciais doadores de órgãos pós-ME e está associada à alta resposta inflamatória e menor oferta de órgãos por doador. (25)

Após a lesão neuronal causada pela morte encefálica, uma grande reação inflamatória desenvolve-se. (13) A resposta inflamatória é descrita em diversos estudos, que demonstraram aumento principalmente de interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF), proteína C reativa (PCR) e procalcitonina, além de aumento de moléculas de adesão celular e infiltração leucocitária nos órgãos. (14,15)

Um estudo prospectivo iraniano recrutou trinta e oito potenciais doadores em morte encefálica de forma consecutiva. Níveis plasmáticos de interleucina 2, IL-6 e TNF-α foram dosados nesses potenciais doadores antes da captação dos órgãos e as complicações pós-transplante hepáticos nos respectivos receptores foram avaliadas. O estudo verificou que as concentrações de TNF-α e IL-6 foram significantemente maiores no plasma dos doadores cujos receptores tiveram mais complicações, enquanto os níveis de interleucina 2 não diferiram entre os dois grupos. Seis receptores morreram de complicações, mas não foi encontrada correlação direta com os níveis de citocinas dos doadores. O autor concluiu que altas concentrações de IL-6 e TNF-α no plasma dos receptores antes da retirada dos órgãos, estão associadas a complicações pós-operatórias em receptores de transplante hepático. (13)

Existem vários estudos que avaliaram o papel da resposta inflamatória nos diversos órgãos do potencial doador. Os estudos que avaliaram o fígado concluíram que a morte encefálica induz resposta inflamatória nesse órgão. (15) Um trabalho realizou biópsias hepáticas após isquemia fria em doadores cadáveres e doadores vivos. Foram analisados níveis de IL-6, IL-10 e TNF-α e, foram demonstrados maiores índices de citocinas e maior infiltrado inflamatório nos enxertos oriundos de doadores falecidos. Além disso, houve aumento de transaminases e níveis de bilirrubina, levando a aumento das taxas de rejeição e falência do enxerto. (26) Outro trabalho de 2006 também realizou biópsias hepáticas, mas agora de doadores falecidos em comparação com pacientes sadios pós-cirurgias eletivas. Verificou-se que moléculas de adesão inflamatórias têm níveis significantemente maiores em pacientes em morte encefálica, concluindo que essa via inflamatória tem papel relevante no dano tecidual orgânico pós-ME. (27) De forma discrepante, outro estudo que avaliou níveis de antígeno leucocitário humano em biópsias confirmou a presença de atividade inflamatória, mas não revelou repercussão no funcionamento do enxerto a longo prazo. (28)

Estudo sobre a inflamação nos rins após a ME apresentam resultados conflitantes. Nijboer *et al* compararam biópsias de rins de doador cadáver e doadores vivos imediatamente antes da retirada e eles não encontraram diferença entre os níveis de interleucina 1β, IL-6, Interleucina 8 e indutores de óxido nítrico sintetase. Em contraste, outros estudos encontraram aumento de fatores inflamatórios nas biópsias renais de doadores falecidos em comparação com

doadores vivos. (15) Um estudo realizado em 2003 comparou subpopulações de anticorpos leucocitários, moléculas de adesão e antígenos antileucocitários humanos classe II em biópsias de rins de doadores falecidos e doadores vivos. Foram encontrados níveis significantemente maiores de linfócitos, monócitos e macrófagos nos doadores cadavéricos. Além disso, identificou-se que altos níveis de moléculas de adesão intracelular estavam associados com longos períodos de ventilação mecânica, infecção no doador e administração de dopamina. Dessa forma, foi concluído que mudanças inflamatórias acontecem nos enxertos cadavéricos e que essas alterações estão associadas com eventos que ocorrem durante o período de internamento da Unidade de Terapia Intensiva. Essas mudanças inflamatórias não afetam os resultados clínicos do transplante inicialmente, mas podem contribuir para o aumento da resposta imune e mal funcionamento do enxerto a longo prazo. (29)

Outro estudo do ano de 2001 corrobora com o achado do estudo anterior. Nesse caso foi estudado se a expressão de moléculas de adesão celular poderia predizer disfunção precoce ou tardia do enxerto renal. Foram realizadas biópsias de doadores vivos e cadavéricos e mensurados os níveis de moléculas de adesão intercelular 1 e moléculas de adesão vascular 1. Os resultados mostraram aumento das moléculas de expressão inflamatória nos rins cadavéricos, mas não foi encontrada relação com a disfunção precoce do enxerto. Dessa forma concluiu-se que o aumento dessas moléculas inflamatórias nos rins de doador cadáver não são preditores de rejeição precoce, mas podem ser usados como marcadores de falência renal pós-aguda isquêmica. (30)

Em 2007, outro autor estudou se havia relação entre a expressão de citocinas pós-ME e presença de isquemia de injúria-reperfusão, além da correlação com sobrevida do enxerto renal. Utilizando tecido obtido de biópsias renais, foram dosados interferon, fator de crescimento β1, fator de crescimento relacionado a plaquetas e interleucinas. O estudo concluiu que o aumento da resposta inflamatória pós-ME é um importante fator de estímulo para a resposta imune pós-transplante e tem impacto na sobrevida renal a longo prazo. (31)

Nessa mesma linha de avaliação, mais um trabalho estudou 39 pacientes, doadores de enxertos renais cadavéricos e vivos, na fase precoce pós-clampeamento do órgão, por meio de biópsia renal. Foram isoladas citocinas e receptores de citocinas nesse material histológico e concluiu-se que há aumento

dessa atividade inflamatória durante a reperfusão do órgão tanto em doadores vivos como em falecidos, não encontrando diferença significativa entre os grupos. (32)

O aumento de atividade inflamatória também é encontrado em estudos clínicos com potencias doadores de coração. (15) Disfunção cardíaca pós-transplante tem sido associada com a tempestade autonômica do doador falecido e a atividade pró-inflamatória parece ter um papel central nesse processo. Em busca dessa comprovação, um trabalho de 2002 estudou a expressão de receptores de IL-6, os níveis de IL-6 e sua relação com a disfunção do enxerto cardíaco e seu impacto no prognóstico. Foi verificado que pacientes com disfunção cardíaca direita têm elevados níveis de receptor e de IL-6, concluindo-se que o aumento do receptor de IL-6 no doador pode explicar a disfunção cardíaca precoce do enxerto no período perioperatório. (33)

Outro autor também relacionou a atividade inflamatória e a disfunção cardíaca pós-transplante. Em uso estudo com biópsias cardíacas em 40 doadores, foi estudada e expressão de moléculas de adesão vascular, E-selectina e trombomodulina e sua correlação com disfunção do ventrículo direito e esquerdo com uma semana, um mês e três meses de seguimento pós-transplante. Concluiu-se o transplante cardíaco tem marcada ativação endotelial, mas sem diferenças significativas dessa resposta entre os dois ventrículos. Essas mudanças inflamatórias persistem no pós-transplante, mesmo na ausência de rejeição aguda do enxerto. (34)

No ano de 2000, um estudo já havia relacionado o aumento dos níveis inflamatórios e a disfunção cardíaca no doador, impactando no número de enxertos doados. Níveis de TNF-α e IL-6 no tecido miocárdico e no soro foram dosados e comparados entre doadores com disfunção miocárdica (órgãos não utilizados), doadores com boa função ventricular (órgãos utilizados) e pacientes com avançada insuficiência cardíaca. Os resultados documentaram um aumento dos níveis de TNF-α e IL-6 no miocárdio de todos os potenciais doadores, marcadamente naqueles com disfunção cardíaca. As mudanças séricas foram similares. Concluiu-se que essas alterações poderiam ter implicações terapêuticas relevantes. (35)

O pulmão é o órgão mais vulnerável aos efeitos sistêmicos que decorrem da morte encefálica, sendo viável para doação em menos de 20% dos pacientes. A resposta inflamatória contribui de forma importante para esse desfecho. (15) Um estudo avaliou biópsias pulmonares e lavado broncoalveolar de 28 pacientes com

morte encefálica no Reino Unido em 1999. Foram dosados interleucina 8, peptídeo epitelial de ativação de neutrófilos e fator de crescimento alfa. Houve aumento significante das concentrações neutrofílicas e nos níveis de interleucina 8 entre os pacientes em ME quando comparados a pacientes saudáveis. O autor concluiu que esses achados poderiam ter grande importância clínica explicando a disfunção precoce do enxerto, ressaltando que, no cenário do transplante pulmonar, a injúria pulmonar pré-clínica presente no potencial doador de pulmão antes do transplante pode predispor a um pior prognóstico nos receptores. (36)

Um dos limites no número de transplantes pulmonares são os critérios de seleção dos órgãos potencialmente doados. Esses critérios contemplam fatores clínicos, laboratoriais e radiológicos. O mesmo autor em 2004 estudou 39 doadores de pulmões sequenciais e verificou o impacto de diversos fatores clínicos na aceitação ou recusa dos órgãos para doação e os correlacionou com fatores inflamatórios. Foram avaliados idade, grau de oxigenação, cultura positiva de lavado broncoalveolar e concentração de TNF-α e interleucina 8 na secreção pulmonar desses pacientes. Não houve diferença significativa nos níveis de TNF-α e interleucina 8 entre o grupo de órgãos aceitos e os rejeitados, de forma que o autor concluiu que o critérios de seleção utilizados na rotina são pobres na detecção precoce de injúria pulmonar orgânica. (37)

### *4.2.3 Disfunção na produção e descontrole hormonal*

A depleção hormonal também tem efeito na resposta inflamatória e hemodinâmica. (15,38) Distúrbios hormonais decorrentes da lesão da hipófise anterior e posterior são descritos em estudos experimentais. Dos hormônios afetados, o mais estudado é a vasopressina. (15) Em modelos animais, os níveis de vasopressina diminuem já nos primeiros 15 minutos após a morte encefálica e podem se tornar indetectáveis. (39) Dessa forma, 80% dos potenciais doadores desenvolvem *diabetes insipidus*, caracterizada por poliúria, seguida de hipovolemia e hipernatremia caso não tratada adequadamente. (15)

A carência de hormônio tireoideano e corticosteróides colabora para o aumento da resposta inflamatória e instabilidade hemodinâmica. (13,15,40) Em modelos experimentais, os níveis de corticotrofina e cortisol diminuem a partir de 45 minutos após o evento da ME e continuam a diminuir progressivamente. (39) Essa

queda é confirmada também em estudos clínicos, que demonstram que os níveis de cortisol sérico basal são substancialmente menores em pacientes pós-ME do que na população com doença neurológica grave em geral. (41) As concentrações plasmáticas dos hormônios tireoidianos caem nas primeiras horas após a ME, mas seus níveis ainda permanecem próximos dos normais. (39) Níveis subótimos de triiodotironina ocorrem em 60-80% dos pacientes pós-ME, mas valores bastante inferiores do nível normal acontecem apenas em 15%. Os valores de tiroxina livre sofrem decréscimo em 30-35% dos pacientes. (14)

As alterações hormonais são objeto de investigação há bastante tempo. Um estudo de 1989 avaliou a função hipofisária em potencias doadores de órgãos. Amostras de sangue foram obtidas, no momento da doação de órgãos, de 31 doadores com morte cerebral consecutiva. Vinte e quatro casos (77%) tinham *diabetes insipidus* clínico, que foi mal controlado com desidratação acentuada na maioria dos casos. A triiodotironina sérica foi subnormal em 25 (81%); todos tinham nível sérico de triiodotironina reverso normal ou alto; e o índice de tiroxina sérica livre foi subnormal em 9 (29%), e o hormônio tireoestimulante foi subnormal em 7 (23%). Dos 21 casos que não receberam corticosteróides, cinco (24%) tinham um cortisol sérico normal, excluindo a deficiência de hormônio adenocorticotrófico, e apenas um apresentava níveis de cortisol indetectáveis. Aqueles com hipotensão grave não tiveram cortisol sérico significativamente menor. Os níveis de prolactina, hormônio de crescimento, gonadotrofinas e esteróides gonadais foram variáveis, mas apenas uma minoria era francamente deficiente nesses hormônios. O autor concluiu que há alterações hormonais induzidas na ME, mas sua reposição empírica não estava bem fundamentada. A introdução generalizada de tal tratamento deveria seguir apenas estudos controlados que demonstrassem claramente melhora clinicamente significativa na função do órgão transplantado, sem prejuízo para o doador. (42)

Em 1990, um trabalho utilizou trinta pacientes para estudar as mudanças hormonais que ocorrem na ME. Os níveis séricos de tiroxina livre, hormônio tireoestimulante, triiodotironina reverso, cortisol, insulina e lactato foram monitorados em 16 pacientes antes e após a morte encefálica e em 14 pacientes com lesão cerebral grave, mas sem ME. Os níveis de hormônio tireoidiano encontrados foram baixos, embora o hormônio tireoestimulante estivesse elevado em alguns pacientes. Os níveis de cortisol, insulina e lactato também foram normais ou altos. Não foi

encontrada correlação entre baixos hormônios tireoidianos e lactato elevado ou a quantidade de vasopressor necessária para sustentar a pressão arterial. Concluiu-se, portanto, que nenhuma mudança significativa ocorreu nos níveis de hormônio ou lactato após a morte encefálica. (43)

Em 1995, um experimento em cães, avaliou os aspectos hemodinâmicos e hormonais de animais submetidos à morte encefálica. Durante o período de observação do experimento, que foi de 300 minutos, todos os níveis hormonais acompanhados (catecolaminas, triiodotironina, tiroxina, hormônio adrenocroticotrófico, hormônio antidiurético) mostraram queda progressiva quando comparados os valores normais encontrados nos controles. (16)

Um estudo experimental com 10 cães realizado em 1996 investigou as alterações hormonais e hemodinâmicas em um modelo experimental de morte encefálica. O autor encontrou como resultados que, o reflexo de Cushing, seguido por uma resposta hiperdinâmica e *diabetes insipidus*, ocorreu em todos os animais após a morte encefálica. Pressão arterial média, freqüência cardíaca, contratilidade e débito cardíaco aumentaram significativamente. Um pico plasmático de catecolaminas foi observado em todos os animais 15 minutos após a morte encefálica, enquanto as concentrações circulantes dos hormônios hipofisários vasopressina e adrenocorticotrófico diminuíram significativamente após 15 e 45 minutos de ME, respectivamente, e continuaram diminuindo durante o experimento. As concentrações circulantes de triiodotironina, tiroxina e glucagon diminuíram significativamente. O hematócrito aumentou significativamente 15 minutos após a morte encefálica e, em seguida, diminuiu gradualmente ao longo da duração do experimento. Concluiu-se que diminuições significativas nas concentrações circulantes de hormônios do estresse, bem como instabilidade hemodinâmica, ocorreram após a ME. Além disso, as alterações observadas poderiam contribuir para a disfunção orgânica após a ME e poderiam necessitar de suporte hormonal, inotrópico e vasoativo para manter a função do órgão doador no contexto clínico. (39)

Um estudo em 2001 tentou correlacionar as alterações hormonais que ocorrem na ME com a ativação imune no potencial doador. Foram examinados os níveis de catecolaminas, os hormônios vasoconstritores, hormônios hipofisários, e sua correlação com citocinas pró-inflamatórias e receptores de citocinas. Entraram no estudo 17 pacientes com ME e 19 pacientes neurocirúrgicos pré-operatórios. A

ME resultou em aumentos maciços de catecolaminas séricas, enquanto os níveis dos hormônios tireoidiano e adrenais permaneceram inalterados. Foi encontrada correlação significativa com aumentos na IL-6 e receptores solúveis de TNF e interleucina 2 como marcadores para a ativação de cascatas imunológicas. O autor concluiu que esses efeitos poderiam ser direta e indiretamente responsáveis pelo prejuízo na perfusão e função do órgão observadas na ME. (44)

Os níveis séricos de insulina permanecem normais nos pacientes pós-ME (14,39), porém os valores de glicemia costumam se elevar. (45) Essa hiperglicemia induzida pelo estresse decorre de múltiplos mecanismos e pode estar envolvida na modulação da resposta inflamatória, disfunção endotelial e estresse oxidativo. (45)

Um estudo de 1996 estudou os efeitos da ME e da infusão de glicose no glicogênio hepático e hormônios séricos em porcos. Suínos com ME e suínos controle receberam solução isotônica ou glicose / insulina. Em suínos com ME tratados com solução salina, o glicogênio hepático diminuiu após 6 horas e posteriormente, aumentou. Essas alterações foram acompanhadas por aumentos transitórios na adrenalina plasmática, glicose, ácidos graxos livres e glucagon. Após glicose / infusão de insulina, o glicogênio hepático aumentou constantemente e foi aproximadamente o dobro após 12 horas em suínos com ME quando comparados aos sem ME. Em suínos com ME, os aumentos das variáveis hormonais medidas foram menores após a infusão de glicose / insulina do que após a infusão de solução salina. Em conclusão, a diminuição do conteúdo de glicogênio hepático após a ME poderia ser evitada pela infusão intravenosa de glicose / insulina, provavelmente devido à redução da resposta da adrenalina à indução de ME. (46)

### *4.2.4 Disfunção pulmonar e perda da regulação da temperatura corporal*

Além da disfunção hemodinâmica e hormonal, a ME repercute também em outros órgãos, como nos pulmões. A lesão neurológica grave causa injúria e disfunção pulmonar, grandemente associada a edema pulmonar neurogênico. Esse edema pulmonar tem mecanismos hemodinâmicos e simpáticos associados diretamente à tempestade adrenérgica, que levam ao aumento da pressão hidrostática no capilar pulmonar, mas também à lesão endotelial e ao aumento da permeabilidade capilar. Costuma ser bastante precoce, iniciando-se logo após a indução da ME e pode inviabilizar os pulmões para doação. (14)

A perda da regulação da temperatura corporal durante o processo de ME é inevitável e se manifesta com progressiva hipotermia, a não ser que a temperatura seja ativamente corrigida. Esse fenômeno é secundário à combinação de perda de controle hipotalâmico, queda na taxa metabólica, ausência de atividade muscular e aumento da perda de calor pela profunda vasoplegia. A hipotermia pode ativar a coagulação intravascular disseminada, predispondo à coagulopatia, diminuição da contratilidade miocárdica e aumento do risco de arritmias, agravando em última análise, a disfunção orgânica. (1,9)

A presença da atividade pró-inflamatória associada a distúrbios hormonais e instabilidade hemodinâmica explicam o pior prognóstico de pacientes receptores de órgãos vindos de doadores cadavéricos quando comparados com enxertos vindos de doadores vivos. (12,15,40,47)

## 4.3 **Manutenção do potencial doador de órgãos**

Nesse contexto de desproporção entre o número de pacientes aguardando na fila de transplante e o número de órgãos doados, perdas de potenciais doadores por parada cardíaca devido à instabilidade hemodinâmica ou doação de órgãos subótimos, impactam diretamente no número de transplantes realizados e na qualidade de vida pós-transplante. O manejo adequado do potencial doador maximiza o número e a qualidade dos órgãos doados e é essencial para expandir o processo de doação-transplante. (9)

Alguns estudos vêm demonstrando que a padronização de condutas em busca do cumprimento de algumas metas fisiológicas pré-estabelecidas resulta em maior número de órgãos transplantados por doador, melhor função do enxerto e menor perda de potenciais doadores por instabilidade hemodinâmica. Possivelmente esses resultados estejam ligados pela ação anti-inflamatória proporcionada pelo efeito conjunto da ventilação mecânica protetora, expansão volêmica adequada e terapia hormonal combinada. (6,10,12,14)

Em busca do aumento da taxa de órgãos transplantados por doador, a doação de uma terapia guiada por metas no manejo desse pacientes tem sido enfatizada. Um estudo retrospectivo de 2011 coletou informações em questionários das centrais regionais de transplantes do Canadá e identificou as dez metas de tratamento dos potenciais doadores no ambiente de Terapia Intensiva. Foi utilizada

uma análise de regressão logística para determinar preditores independentes da doação de mais de quatro órgãos por paciente, com $p<0,05$. Os resultados concluíram que doadores submetidos a terapia de metas tiveram mais órgãos doados por pacientes. Foram preditores independentes a idade, o valor de creatinina sérica, o uso de hormônio tireoidiano, pressão venosa central entre 4 e 10 mmHg, fração de ejeção maior que 50%, boa oxigenação e sódio sérico entre 130 e 160 mEq/L. (12)

Uma iniciativa inovadora na Grã-Bretanha na década de 90, o “Papworth Program” utilizou uma estratégia conjunta de manejo hemodinâmico e hormonal, e demonstrou que 84% dos doadores que estavam inicialmente excluídos dos critérios de aceitação dos órgãos, quando bem ressuscitados e manejados, podiam fornecer órgãos transplantáveis. Desde a introdução desse programa, a maioria dos centros pelo mundo têm desenvolvido protocolos de manutenção hemodinâmica e hormonal dos potenciais doadores. (14)

No Brasil não foi diferente. Em 2011, uma iniciativa conjunta da Associação de Medicina Intensiva Brasileira e da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos publicou as Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador de órgãos falecido. A partir de uma ampla revisão de literatura, recomendações de cuidados hemodinâmicos, ventilatórios, endócrino-metabólicos, hormonais entre outros formam padronizadas com o intuito de padronizar o atendimento do potencial doador pelos médicos intensivistas. (6,10)

O manejo do potencial doador de órgãos consiste em, desde o início da tempestade autonômica, manter estabilidade hemodinâmica, com uso de vasodilatadores (para hipertensão grave), vasopressores (se houver hipotensão), euvolemia, tratamento de arritmias, reposição de hormônio tireoideano e corticóides, tratamento de infecções, ventilação mecânica protetora, prevenção de *diabetes insipidus*, manejo de hipo e hiperglicemia, controle da hipotermia, assim como oferta nutricional adequada. Todas essas medidas visam diminuir a hipoperfusão dos órgãos e a atividade inflamatória, melhorando a condição do órgão a ser transplantado. (9,10,48–50)

Do ponto de vista hemodinâmico, identificar a causa da instabilidade é crucial para determinar a terapia correta. Diversos tipos de monitorização podem ser aplicados no potencial doador, mas indica-se o uso mínimo de pressão arterial invasiva, dosagem seriada de lactato sérico e ecocardiografia para exclusão de

disfunção cardíaca grave. Porém, monitorização invasiva do débito cardíaco pode ser utilizada nos casos mais graves. (9)

Um grande estudo multicêntrico randomizou potenciais doadores em ME para uma reanimação hemodinâmica guiada por dispositivos invasivos. Foram monitorizados débito cardíaco, pressão arterial média e variação da pressão de pulso. Foram incluídos, no total, 556 pacientes. Não houve diferença significante no número de órgãos transplantados por doador entre os grupos, concluindo que a terapia guiada por metas não foi superior que a monitorização hemodinâmica convencional. (51)

As metas de pressão arterial média praticadas indicam valores entre 60 e 70 mmHg, mas não há estudos randomizados e controlados sobre o assunto. Diversas combinações de vasopressores podem ser utilizadas, mas evidências recentes sugerem que o uso de noradrenalina no doador está associado à menor incidência de perda do enxerto. (9)

Em 2009, um estudo randomizado avaliou o efeito do uso de dopamina no tratamento do doador sobre a disfunção de enxertos renais pós-transplante. Esse estudo multicêntrico aberto incluiu 264 potenciais doadores e o objetivo era avaliar a necessidade de diálise na primeira semana pós-transplante. O uso de dopamina aumentou o débito urinário e a pressão arterial média e diminui a necessidade de diálise após o transplante renal. (52)

Um estudo realizado em 2004 com 27 potenciais doadores falecidos estudou o uso da noradrenalina e a sua relação com a contratilidade do ventrículo direito. Os pacientes foram divididos de forma a não receber noradrenalina, receber baixa ou alta dose. A pressão e volume do ventrículo direito foram medidos pelo uso do cateter de artéria pulmonar. Como resultados, verificou-se que o coração de pacientes em ME tem uma elastância menor do ventrículo direito e a contratilidade ventricular se mostrou inversamente proporcional ao aumento da dose de noradrenalina. (53)

Recentemente foi publicado um estudo que avaliou o efeito da escolha da terapia vasoativa em potenciais doadores na sobrevida dos enxertos renais pós-transplantes. Neste estudo retrospectivo, foram avaliados registros médicos de 135 doadores cadáveres (270 rins) e receptores desses rins. A análise de correlação foi feita para avaliar os dados de fatores que podem causar rejeição e perda do enxerto. O consumo de droga vasoativa (noradrenalina 49%, dopamina 60%, adrenalina 3%,

dobutamina 11%) foi de 85,8% nos cuidados com os doadores. O aumento do número de dias de infusão de noradrenalina foi associado com a diminuição das taxas de rejeição do enxerto e perda do enxerto. Esta correlação não foi encontrada para a dopamina. Os resultados do teste de análise de correlação de Pearson mostraram uma relação entre o uso de noradrenalina e a diminuição da perda do enxerto e rejeição do enxerto. A noradrenalina, mas não a dopamina, usada no tratamento de doadores de cadáveres, diminuiu a taxa de rejeição do enxerto e a perda do enxerto, presumivelmente melhorando a estabilidade hemodinâmica e a perfusão de órgãos. (54)

Os *guidelines* de manejo do potencial doador enfatizam a importância da prevenção e correção imediata da hipovolemia para manter a perfusão de órgãos potencialmente transplantáveis. (6,9,49–51) A hipovolemia é extremamente comum no potencial doador devido à pronunciada vasodilatação periférica e à *diabetes insipidus* central, consequências da simpatólise e da desregulação hormonal, respectivamente. A monitorização hemodinâmica adequada é essencial para realizar a reposição volêmica e os fluidos de escolha são os cristaloides. (9,50)

Apesar da hipovolemia ser comprovadamente danosa, excesso de fluidos podem impactar negativamente. Um estudo de 2012 avaliou se uma estratégia de manejo agressivo de potenciais doadores de pulmão impactava na perda de enxertos renais pós-transplante. Foi um estudo de coorte, que demonstrou que o uso de balanço hídrico restritivo como parte da estratégia para otimizar os doadores de pulmões não teve impacto no desfecho renal, sugerindo que cuidados em não exceder a infusão de volume podem ser benéficos. (55)

A hipernatremia é um distúrbio eletrolítico bastante comum nos pacientes com diagnóstico de ME. Ela decorre da poliúria, que por sua vez, é multifatorial, principalmente pelo uso de drogas diuréticas para tratamento da hipertensão intracraniana e, também, pela *diabetes insipidus*. A *diabetes insipidus* pode acometer mais de 80% dos potenciais doadores e deve ser diagnosticada e tratada precocemente. O tratamento pode ser com desmopressina ou vasopressina, dependendo da situação clínica do paciente. Quando há hipotensão associada, a escolha deve ser a vasopressina. (9,10,49) O uso de vasopressina aumenta o valor da pressão arterial média e diminui a necessidade de catecolaminas, contribuindo para a estabilidade hemodinâmica. (56) O uso de vasopressina está associado ao aumento das taxas de doação de órgãos, mas não está claro se esse efeito decorre

do tratamento da hipotensão ou da *diabetes insipidus*, ou de ambos. A meta de valor sérico de sódio ideal é inferior a 155 mEq/l, pois taxas superiores estão associadas a piores desfechos de enxertos hepáticos pós-transplante. (9)

A combinação de aumento de pressão hidrostática, dano endotelial e inflamação alveolar, aumenta a vulnerabilidade dos pulmões à injúria mecânica e isquêmica. Esse duplo mecanismo de lesão, hemodinâmico e inflamatório, faz uma lesão pulmonar semelhante à síndrome da angústia respiratória aguda e pode não apenas impedir a doação dos pulmões, como atrapalhar a homeostase de outros órgãos. Os cuidados com os pulmões incluem manter a oxigenação adequada, com a menor fração inspirada de oxigênio suficiente para manter a pressão parcial de oxigênio superior a 100 mmHg, saturação de oxigênio acima de 95% e valores de pressão parcial de gás carbônico e pH normais. (9,10) A ventilação mecânica deve ser protetora, com volumes correntes entre 6 e 8 ml/Kg, pressão positiva expiratória final (PEEP) entre 8 a 10 cm$H_2O$ e circuito fechado de aspiração, visando manter baixas pressões de via aérea. A escolha da estratégia protetora de ventilação mecânica diminui os níveis de IL-6 no doador e aumenta o número de pulmões elegíveis para doação. (9,57)

Em 2010, um estudo randomizado multicêntrico controlado que envolveu 12 unidades de Terapia Intensiva europeias entre 2004 e 2009 testou a hipótese de que uma estratégia protetora de ventilação pulmonar no potencial doador aumentaria o número de pulmões elegíveis para doação. Os doadores em potencial foram randomizados para a estratégia ventilatória convencional (com volume corrente de 10-12 mL / kg de peso corporal previsto, PEEP de 3-5 cm $H_2O$, testes de apneia realizados desconectando o ventilador e circuito aberto para aspiração das vias aéreas) ou a estratégia ventilatória protetora (com volumes correntes de 6-8 mL / kg de peso corporal previsto, PEEP de 8-10 cm$H_2O$, testes de apneia realizados com pressão positiva contínua nas vias aéreas e circuito fechado para aspiração das vias aéreas). O estudo foi interrompido após a inclusão de 118 pacientes devido aos achados. A estratégia protetora aumentou significativamente os pulmões elegíveis para doação e também o número de transplantes pulmonares. (57)

Um estudo observacional avaliou o impacto de um protocolo agressivo de tratamento do potencial doador de pulmão na taxa de enxertos pulmonares, sem diminuir o número de enxertos renais para transplantes. Doadores de pulmão e receptores de rim de 2009 e 2010 foram considerados para a coorte prospectiva e

coorte histórica foi de 2003 a 2008. O número de pulmões disponíveis para transplante foi o principal desfecho. Para os receptores, a sobrevida do enxerto renal foi o desfecho principal. Como resultado, quadruplicou-se o número de doadores de pulmão no período de 2009 a 2010 em comparação com o controle histórico. O manejo na coorte prospectiva incluiu maior uso de PEEP, maior uso de terapia de ressuscitação hormonal e menor nível de pressão venosa central do que controle histórico. A probabilidade de sobrevida do enxerto renal em um ano após o transplante foi 88,6% no controle histórico e 94,7% na coorte prospectiva ($p$=0,226). Dessa forma, conclui-se que a estratégia de manejo agressivo em potenciais doadores de pulmão, incluindo manobras de recrutamento de ventilação, PEEP 8 cmH2O, uso de reposição hormonal e reposição hídrica restritiva, aumenta a taxa de enxertos disponíveis para transplante sem efeitos adversos na sobrevida do enxerto renal. (55)

Outras linhas de pesquisa foram desenvolvidas para melhorar o manejo do potencial doador de pulmões. Um estudo retrospectivo de 2014 avaliou o efeito do uso de vasopressina na manutenção da função pulmonar e a melhora do desempenho do enxerto pulmonar em receptores. Foram incluídos doadores que usaram reposição hormonal de primeiro de janeiro de 2009 a 30 de junho de 2011. Os doadores foram divididos em dois grupos: uso ou não de vasopressina durante o processo de doação. Foram incluídos 12.322 doadores, dos quais 7.686 receberam vasopressina (62,4%). Houve um aumento significativo nas doações de múltiplos órgãos (≥4 órgãos) (51,0% versus 39,3%, $p$<0,001) e no número médio de órgãos doados (3,75 versus 3,33, $p$<0,001) no grupo do uso da vasopressina. A função pulmonar foi preservada em maior grau nos doadores que receberam vasopressina. A incidência de falência inicial do enxerto não foi alterada. Os autores concluíram que a vasopressina está associada com a manutenção da função pulmonar e um aumento significativo no número de órgãos doados, sem efeitos adversos no receptor. Sugeriram que a vasopressina deveria ser adotada universalmente como um componente da terapia de reposição hormonal no manejo de doadores falecidos. (58)

O manejo endócrino do potencial doador é, também, preconizado. (9,10,49) Os estudos que procuram evidência que a reposição hormonal é benéfica são feitos há bastante tempo e seus resultados são controversos.

Um grupo de autores publicou uma série de trabalhos sequenciais, experimentais e em humanos, investigando essa questão. (59–61) Em 1987, eles estudaram a resposta hemodinâmica e metabólica à terapia de reposição hormonal em potenciais doadores de órgãos. Foi testada uma terapia de reposição conjunta de hormônio tireoidiano, cortisol e insulina. Vinte e seis doadores não utilizaram essa reposição (grupo A) e apresentaram deterioração hemodinâmica progressiva, necessitando incrementos significativos de suporte inotrópico para manutenção da estabilidade cardiovascular, necessitando de aumento significativo dos requerimentos de bicarbonato para manutenção do equilíbrio ácido-base normal. Desse grupo, 20% dos doadores foram considerados inadequados como doadores cardíacos devido à deterioração cardiovascular progressiva ou fibrilação ventricular súbita. A terapia hormonal foi administrada a 21 doadores (grupo B), resultando em uma melhora significativa do estado cardiovascular, requerendo menos suporte inotrópico e, significativamente, menos bicarbonato. No grupo B, órgãos de todos os doadores (coração, coração e pulmões e rins) foram adequados para o transplante, com excelente função de órgão após a implantação do enxerto. (59)

Na sequência, em 1987, os mesmos autores fizeram um estudo experimental na mesma linha de pesquisa. Foi estudado se a reposição hormonal poderia melhorar a função cardíaca em porcos. Os corações foram biopsiados para estimar o trifosfato de adenosina, fosfato de creatina, lactato e glicogênio, e foram subsequentemente, testados funcionalmente. Seis grupos de porcos foram estudados. Foram testados os corações de suínos controles que não haviam sofrido ME (A1), de suínos com ME que receberam fluido intravenoso e suporte inotrópico por 4 h (B1), e de suínos com ME que receberam 2 h de terapia hormonal. Outros 3 grupos (A2-C2) foram submetidos à gestão idêntica à A1-C1, mas, além disso, os corações foram armazenados durante 24 horas. A ME em porcos foi seguida por um consumo de reservas de energia miocárdica, apesar da glicólise anaeróbica e isso foi associado à redução da função miocárdica. A administração de hormônios aos animais levou a uma reposição de energia miocárdica e reservas de glicogênio e redução do lactato, com melhora associada da função hemodinâmica. Um período de armazenamento de perfusão hipotérmica pareceu reverter o metabolismo anaeróbico que ocorre no coração do animal em ME não tratado hormonalmente, embora não no animal tratado hormonalmente, e conduziu à reposição de reservas de glicogênio em animais não tratados. Sugeriu-se que a reposição hormonal

induzia metabolismo aérobio e anaeróbio nas células cardíacas, com preservação da função cardíaca. (60)

Em 1989, macacos foram utilizados para verificar a presença de gás carbônico exalado, a fim de estimar o metabolismo anaeróbio, além da medida das concentrações de lactato sérico e ácido graxo livre de plasma. Os animais foram divididos em 3 grupos: animais sob sedação, em ME sem reposição hormonal e em ME com reposição de hormônio tireoidiano. Houve uma grande mudança nos processos oxidativos metabólicos após a ME. A taxa de utilização de glicose, piruvato e palmitato foi marcadamente reduzida, e houve um acúmulo de lactato e ácidos graxos livres no plasma, indicando uma mudança geral do metabolismo aeróbico para anaeróbico. A administração de hormônio tireoidiano aos macacos em ME resultou em um aumento dramático na taxa de utilização do metabólito e uma redução nas concentrações plasmáticas de lactato e ácidos graxos livres, indicando uma aparente reversão do metabolismo anaeróbico do tecido para o metabolismo aeróbico. Sugeriu-se, na ocasião, que o hormônio tireoidiano devesse ser administrado a todos os potenciais doadores de órgãos com ME para corrigir e manter um estado metabólico mais fisiológico e, assim, melhorar a função dos órgãos. (61)

Um estudo experimental mais recente utilizou porcos para avaliar os efeitos hemodinâmicos e cardíacos da reposição hormonal. Após a otimização hemodinâmica com fluidos e noradrenalina, os animais receberam hormônio tireoidiano, corticoides, insulina e vasopressina. Os dados foram coletados antes da ME, 3 e 6 h pós-ME. Às 6 h, o uso médio de norepinefrina foi maior nos controles, a pressão arterial média foi maior nos animais estudados e a contratilidade cardíaca também foi significativamente maior, além da melhora significativa do volume sistólico e do débito cardíaco. Concluiu-se que, em um modelo suíno de ME, a reposição hormonal reduziu os requerimentos de norepinefrina e melhorou a hemodinâmica e a função cardíaca, sugerindo a adoção da reposição como medida obrigatória na manutenção do potencial doador de órgãos. (62)

Um estudo em humanos de 2001 também foi positivo para os benefícios da reposição hormonal. Foram estudados de forma ampla os benefícios da reposição de hormônio tireoidiano no potencial doador falecido. O estudo foi prospectivo de intervenção e todos os pacientes foram ressuscitados agressivamente para preservação de órgãos com fluidos, agentes inotrópicos e vasopressores. Se,

apesar de todas as medidas, os pacientes permanecessem hemodinamicamente instáveis, bolus de metilprednisolona, glicose, insulina e levotiroxina sódica eram realizados, seguido de infusão contínua de levotiroxina sódica. Houve uma redução significativa na exigência de vasopressor total após a terapia com levotiroxina, sendo que dez pacientes (53%) tiveram a interrupção completa dos vasopressores. Não houve falhas em atingir a doação de órgãos devido à parada cardiorrespiratória. Concluiu-se que a terapia com levotiroxina desempenhou um papel importante no manejo dos potenciais doadores de órgãos hemodinamicamente instáveis, diminuindo as necessidades de vasopressores e prevenindo o colapso cardiovascular. Isso poderia resultar em um aumento na quantidade e qualidade dos órgãos disponíveis para transplante. (63)

Na contramão desses achados, alguns estudos foram negativos no que tange ao manejo endócrino. Já em 1992 um estudo controlado não mostrou benefícios da reposição de hormônio tireoidiano de potenciais doadores. (64) Em 1996, outro estudo com potenciais doadores falhou em mostrar melhora da função cardíaca após o uso de hormônio tireoidiano. Nele, trinta e sete pacientes com ME foram aleatoriamente e cegamente alocados para receber um bolus intravenoso de hormônio tireoidiano ou placebo salina. As medidas incluíram variáveis hemodinâmicas e ecocardiográficas convencionais, avaliação das condições de volume cardíaco e função sistólica do ventrículo esquerdo, velocidade de encurtamento da fibra miocárdica usando sonda transesofágica, gasometria arterial e mista e concentrações séricas de hormônios tireoidianos. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros hemodinâmicos e ecocardiográficos entre os grupos placebo e o grupo de reposição hormonal. Em conclusão, a administração de T3 não melhorou o estado hemodinâmico e a função miocárdica em pacientes com ME, sugerindo que a síndrome do eutireoidiano doente não era o principal determinante da disfunção miocárdica nesses pacientes. (65)

Uma análise retrospectiva de todos os doadores com ME nos Estados Unidos foi conduzida por um grupo de pesquisadores, a fim de determinar se a reposição hormonal aumentaria o número de órgãos captados por doador. Foram usados bolus de metilprednisolona, infusões de vasopressina e triiodotironina ou L-tiroxina. Análises univariadas e análises de regressão logística multivariada foram usadas para detectar diferenças entre o grupo de pacientes que receberam reposição hormonal e os doadores que não receberam. Dos 10.292 doadores com

morte cerebral analisados de forma consecutiva, 701 receberam o conjunto dos três medicamentos. A análise univariada mostrou que o número médio de órgãos dos doadores com reposição hormonal foi 22,5% maior que o dos doadores de ressuscitação não-hormonal ($p$<0,001). A extrapolação dessas probabilidades para os 5.921 doadores com ME recuperados em 2001 foi calculada para produzir um aumento total de 2.053 órgãos. A conclusão na época foi que a reposição hormonal estabilizava alguns doadores com ME e estava associada a aumentos significativos no número de órgãos transplantados por doador. (66)

Estudos mais recentes continuam a investigar o assunto. Em 2012, uma revisão sistemática e meta-análise avaliaram todos os estudos clínicos publicados sobre a administração de hormônios tireoidianos para potenciais doadores de órgãos com ME. Todas as séries de casos e estudos retrospectivas relataram um efeito benéfico da administração de hormônio tireoidiano, porém, todos os sete ensaios clínicos randomizados controlados não relataram nenhum benefício da administração do hormônio tireoidiano isoladamente ou em combinação com outras terapias hormonais. Em quatro estudos controlados por placebo, incluindo 209 doadores, a administração do hormônio tireoidiano (n=108) comparado ao placebo (n=101) não teve efeito significativo no índice cardíaco do doador. A principal limitação da série de casos e auditorias retrospectivas foi a falta de consideração de variáveis não controladas que confundem a interpretação dos resultados. Uma limitação dos ensaios clínicos randomizados foi que a proporção de doadores hemodinamicamente instáveis ou marginais de outras formas era pequena demais para excluir um benefício do hormônio tireoidiano nesse subgrupo. Sendo assim, os resultados desta revisão sistemática não suportaram um papel para a administração rotineira de hormônio da tireóide no doador de órgãos com potencial ME. Os autores ainda acrescentaram que as recomendações existentes sobre o uso do hormônio tireoidiano em doadores marginais eram baseadas em evidências com baixo nível científico. (67)

Entretanto, em 2014, um estudo retrospectivo mostrou resultado diverso da meta-análise de 2012. Esse trabalho incluiu dados de 63.593 potenciais doadores, dos anos de 2000 a 2009. Desses, 40.124 pacientes haviam recebido reposição de hormônio tireoidiano, coriticoide, insulina e vasopressina. A sobrevivência pós-transplante de enxerto de órgãos no primeiro mês e com 12 meses foi comparada. A terapia hormonal foi associada à aquisição de um número significativamente maior

de corações, pulmões, rins, pâncreas e intestinos, mas não de fígado. A análise multivariada indicou um efeito benéfico da terapia hormonal independente de outros fatores ($p$<0,0001). A reposição hormonal do doador foi associada com melhora na sobrevida do enxerto após o transplante ou nenhuma diferença na sobrevida, exceto para sobrevivência do receptor de pâncreas (mas não enxerto) aos 12 meses. Dessa forma concluiu-se que a terapia de reposição hormonal resulta em mais órgãos transplantáveis, sem prejuízo da sobrevida pós-transplante do enxerto. (68)

Sendo assim, apesar de controversa devido às evidências conflitantes, as diretrizes de manejo do potencial doador têm recomendado a reposição de hormônio tireoidiano para pacientes instáveis hemodinamicamente. (9,10,49)

O tratamento de potenciais doadores com corticoides tem sido recomendado por duas razões. (9) A primeira trata a presumida falência do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, induzida pela ME e com potencial efeito de prejuízo hemodinâmico (41) e, a segunda, objetiva diminuir a resposta inflamatória, o que poderia ter benefício sobre a função orgânica. (9,49) Um estudo experimental com porcos concluiu que o uso de dose altas de corticoide preserva a função sistólica do ventrículo esquerdo e a função diastólica cardíaca e poderia aumentar o número de corações elegíveis para doação. Outro estudo, agora retrospectivo, concluiu que uso de altas doses de corticoides melhorou a oxigenação dos potenciais doadores e resultou num aumento significante de pulmões transplantados. (69) Uma revisão sistemática encontrou apenas um estudo randomizado demonstrando benefício clínico, por reduzir a isquemia hepática e a rejeição aguda. (9) Além disso, o uso de corticoides potencialmente poderia aumentar a glicemia, algo sabidamente maléfico para os resultados dos transplantes. (9) O assunto necessita de um grande estudo randomizado para ser esclarecido, porém, atualmente, as evidências de benefício do uso de corticoide são de baixa qualidade. (9,70) A indicação do uso de corticoides permanece pouco clara, mas pode ser considerada em casos de instabilidade hemodinâmica. (9)

Como acontece em pacientes criticamente doentes, a hiperglicemia nos pacientes em ME decorre da resistência à insulina e da gliconeogênese. (9) A hiperglicemia está associada a redução da função renal no doador (45) e à perda de enxertos pancreáticos. (9) O malefício também acontece pela indução de diurese osmótica, causando hipovolemia e distúrbios eletrolíticos, e pelo aumento do risco

de infecção nos potenciais doadores. Consensos recomendam a manutenção da glicemia abaixo de 180 mg/dL. (9,50,71)

O controle da hipotermia parece ser importante na condução hemodinâmica do potencial doador (9,14,49), além de ser um pré-requisito necessário para a realização das etapas diagnósticas do protocolo de ME. (4) Um estudo randomizado recente sugeriu que a hipotermia moderada pode reduzir a necessidade de diálise pós-transplante renal quando comparado à normotermia, mas um estudo retrospectivo posterior mostrou que as temperaturas mais baixas podem reduzir o valor de creatinina no doador, mas sem benefícios sobre o enxerto. Dessa forma, a recomendação de manter a temperatura superior a 35 °C é razoável, principalmente nos pacientes com grave instabilidade cardiovascular. (9)

Faz parte dos cuidados adicionais com o potencial doador a correção da anemia, com taxas de hemoglobina que devem permanecer superiores a 7 g/dL, a correção de distúrbios de coagulação e a manutenção do suporte nutricional enteral. Além disso, infecções devem ser rapidamente reconhecidas e tratadas, já que sepse em tratamento com antibióticos apropriados e controlada, não é contraindicação para doação de órgãos. (9,10,50)

Muitas das estratégias de manejo do potencial doador de órgãos advindos da ME derivam de estudos da repercussão no receptor do enxerto. Faltam evidências científicas fortes e alguns protocolos são baseados em fisiopatologia, estudos experimentais, estudos observacionais epidemiológicos e extrapolação das estratégias de manejos dos pacientes críticos em geral. (9)

## 5 ARTIGO

# BENEFÍCIO CLÍNICO, LABORATORIAL E HISTOLÓGICO DE UMA ESTRATÉGIA OTIMIZADA DE MANUTENÇÃO DO POTENCIAL DOADOR DE ÓRGÃOS – MODELO EXPERIMENTAL EM COELHOS

Luana Alves Tannous

ORCID 0000-0003-3559-1712

Afiliação: Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Glauco Adriano Westphal

ORCID 0000-0001-9581-7141

Afiliação: Central Estadual de Transplantes de Santa Catarina, Santa Catarina, Brasil

Sergio Ossamu Ioshii

ORCID 0000-0003-1208-2448

Afiliação: Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Guilherme Naves de Lima Alves

ORCID 0000-0002-5121-3749

Afiliação: Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Raul Nishi Pigatto

ORCID 0000-0001-8584-893X

Afiliação: Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Rafael Luiz Pinto

ORCID 0000-0002-2096-6465

Afiliação: Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Katherine Athayde Teixeira de Carvalho

ORCID 0000-0003-4860-2855

Afiliação: Pelé Pequeno Príncipe Institute, Child and Adolescent Health Research & Pequeno Príncipe Faculty.

Júlio Cesar Francisco

ORCID 0000-0003-1970-6399

Afiliação: Universidade Positivo, Curitiba, Paraná, Brasil

Luiz César Guarita-Souza

ORCID

Afiliação: Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

E-mail para correspondência: luanatannous@yahoo.com.br

Abreviações

| | |
|---|---|
| CPK | creatinofosfoquinase |
| FC | frequência cardíaca |
| $FIO_2$ | fração inspirada de oxigênio |
| HB | hemoglobina |
| ME | morte encefálica |
| NA | noradrenalina |
| PAM | pressão arterial média |
| PD | potencial doador de órgãos |
| PEEP | pressão positiva expiratória final |
| Sat $O_2$ | saturação de oxigênio |
| TGO | transaminase glutâmico oxalacética |
| TGP | transaminase glutâmico pirúvica |

**Introdução**: A maioria dos órgãos transplantados vem de doadores em morte encefálica (ME). O processo de ME causa uma grande descarga simpática e inflamatória, resultando em disfunção orgânica do doador e maiores índices de rejeição do enxerto no pós-transplante.

**Objetivos**: Avaliar a repercussão clínica, laboratorial e histológica de três estratégias distintas de suporte hemodinâmico do potencial doador de órgãos na fase precoce após a indução da morte encefálica em um modelo animal.

**Material e Método**: Foram estudados 20 coelhos, divididos em 4 grupos: A (controle), B (indução de ME + infusão de cristaloides), C (ME + infusão de cristaloides e noradrenalina (NA)), D (ME + infusão de cristaloide + vasopressina + levotiroxina + metilprednisolona + NA). Os animais foram monitorizados por quatro horas com medidas sucessivas de pressão arterial média, temperatura, frequência cardíaca e saturação de oxigênio. No início e final do experimento foram dosados lactato sérico, hemoglobina, transaminases, amilase, creatinofosfoquinase, sódio, potássio e glicemia. Após o término do estudo, coração, pulmões, fígado e rins foram retirados e analisados histologicamente.

**Resultados**: No grupo D (estratégia otimizada) observamos menor quantidade ($p$=0,032) e número de infusões hídricas ($p$=0,014) em comparação aos outros grupos intervenção. Os níveis de pressão arterial média foram maiores no grupo D em relação ao grupo B ($p$=0,008). O grupo D foi superior ao C no controle da glicemia ($p$=0,016). Houve aumento dos valores de sódio no grupo B em relação aos grupos C e D ($p$=0,021). No grupo D foi encontrada a menor altura média das células tubulares renais, menor área média de capilares cardíacos e menor área média de esteatose hepática

**Conclusões**: A estratégia otimizada de manejo clínico dos animais em ME (grupo D) associou-se com melhor controle hemodinâmico, da glicemia e de natremia, além de redução de sinais de isquemia precoces no coração, rins e fígado.

## 1. INTRODUÇÃO

A ME é definida pela parada total e irreversível das funções encefálicas e caracterizada pela constatação de coma aperceptivo, ausência de reflexos de tronco e apneia. (1) No contexto do transplante, a identificação da ME tem extrema importância, pois 73 a 80% dos órgãos provêm de doadores em ME. (2)

A sucessão de fenômenos fisiopatológicos que ocorre na ME pode implicar em disfunções orgânicas ainda no período pré-transplante e diminuir as chances de sucesso do procedimento. (3) Trata-se de uma cascata de eventos que se segue à herniação e isquemia cerebral, composta de perda do controle regulatório neuro-hormonal central, disfunção do eixo hipotálamo-hipofisário e aumento transitório da atividade simpática, que implica em hipóxia tecidual, amplificação da resposta inflamatória e disfunção de órgãos e tecidos que se pretende destinar para transplante. (4,5) Além do aumento de citocinas, deficiência de vasopressina, hormônio tireoideano e cortisol contribuem para o aumento da resposta inflamatória. (3,6–8) Assim, a instabilidade hemodinâmica resultante da falta de múltiplos hormônios e a intensa atividade pró-inflamatória poderia explicar o pior prognóstico de pacientes receptores de coração, pulmão, fígado e rins oriundos de doadores com ME em comparação aos receptores de órgãos de doadores vivos. (7,9)

Há uma grande disparidade entre a lista de pacientes que necessitam de transplante de órgãos e a disponibilidade de órgãos para doação. (10) O número anual de transplantes representa apenas 10% da necessidade global (11), e a baixa oferta de órgãos está associada à subnotificação de ME, não autorização familiar para doação e falhas no manejo clínico do potencial doador de órgãos (PD). (12,13) A falha da manutenção clínica está associada tanto à perda de PD por parada cardíaca quanto ao comprometimento da qualidade dos órgãos a serem transplantados. (14)

A padronização de condutas em busca do cumprimento de algumas metas fisiológicas preestabelecidas resulta em maior número de órgãos transplantados por doador, melhor função do enxerto e menor perda de PD por instabilidade hemodinâmica. (2,5,12) Desde o início da tempestade autonômica, advoga-se tratar a instabilidade hemodinâmica e infecções, prevenir a *diabetes insipidus* e controlar a glicemia. (1,15,16) Além disso, os benefícios da ventilação mecânica protetora, da

expansão volêmica e da reposição de vasopressina, hormônio tireoidiano e corticoide têm sido demonstrados em estudos. (8,17–19)

O propósito desse estudo foi avaliar a repercussão clínica, laboratorial e histológica da prescrição de um conjunto de medidas de suporte hemodinâmico otimizado após indução de ME em um modelo animal.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Animais

Vinte coelhos machos da linhagem Nova Zelândia com peso entre 3,0 kg e 4,0 kg e com idade entre 4 e 5 meses participaram do experimento. Todos os procedimentos foram executados de acordo com os princípios éticos para experimentação em animais (Lei 11.794 de 08/10/2008) e após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da PUC PR (CEUA - Registro do projeto – 01153).

Os animais foram transferidos via terrestre ao Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, cerca de 12 horas antes do início do ensaio cirúrgico, permaneceram em gaiolas próprias com 01 animal cada e mantidos em ciclo noite/dia de 12 horas, em ambiente com controle de ruídos, temperatura (22ºC) e umidade (60%). Os animais foram alimentados com ração padronizada e água *ad libitum* até 12 horas antes da anestesia.

Durante o experimento os animais foram manipulados cuidadosamente pelo dorso, um a um, para evitar qualquer aumento de atividade física ou metabólica pelo estresse.

### 2.2 Protocolo do Experimento

Os 20 animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 5 coelhos:

- Grupo A (controle) – anestesia + intubação oro-traqueal/ ventilação + craniotomia + infusão de cloreto de sódio 0,9% em bolus em caso de hipotensão, sem ultrapassar 40 ml/Kg;
- Grupo B (ME e reposição volêmica) – anestesia + intubação oro-traqueal/ ventilação + craniotomia + indução da ME + bolus de cloreto de sódio 0,9% em caso de hipotensão, sem ultrapassar 40 ml/Kg;

- Grupo C (ME e estratégia básica) – anestesia + intubação oro-traqueal/ventilação + craniotomia + indução da ME + bolus de cloreto de sódio 0,9% em caso de hipotensão, sem ultrapassar 40 ml/ kg + noradrenalina 0,05 – 2 mcg/kg/min em caso de instabilidade hemodinâmica;
- Grupo D (ME e estratégia otimizada) – anestesia + intubação oro-traqueal/ventilação + craniotomia + indução de ME + suporte hemodinâmico otimizado com bolus de cloreto de sódio 0,9% sem ultrapassar 40 ml/kg + infusão contínua de vasopressina 0,04 U/h + metilprednisolona (15 mg/kg) + levotiroxina (4 mg/kg) + noradrenalina 0,05 – 2 mcg/kg/min em caso de instabilidade hemodinâmica.

**2.3 Anestesia e indução da morte encefálica**

A anestesia foi induzida com quetamina 35 mg/kg e xilazina 5 mg/kg, seguida de intubação oro-traqueal com videolaringoscópio e ventilação mecânica(20). A analgesia foi realizada com dipirona endovenosa além da anestesia local com lidocaína. Todos os animais foram ventilados na modalidade pressão controlada, com pressão de pico inspiratório de 20 cm $H_2O$, fração inspirada de oxigênio de ($FIO_2$) 100 %, frequência respiratória de 50 ciclos/min e pressão positiva expiratória final (PEEP) de 8 $cmH_20$.

Duas veias periféricas foram canuladas nos membros inferiores e a artéria média da orelha foi puncionada para monitorização contínua da pressão arterial.

Todos os animais foram submetidos a trepanação cirúrgica (FIGURA 1A). O procedimento para indução da ME foi realizado nos grupos B, C e D, com a inserção de um cateter Fogarty® 4 F (Edwards Lifescience LLC, Irvine, CA, USA) pelo orifício da craniotomia (FIGURA 1B). A indução da ME ocorreu pela rápida insuflação do cateter com 3 ml de ar, sendo confirmada por meio da observação de pico hipertensivo, ausência de reflexo corneano e midríase bilateral fixa. (21)

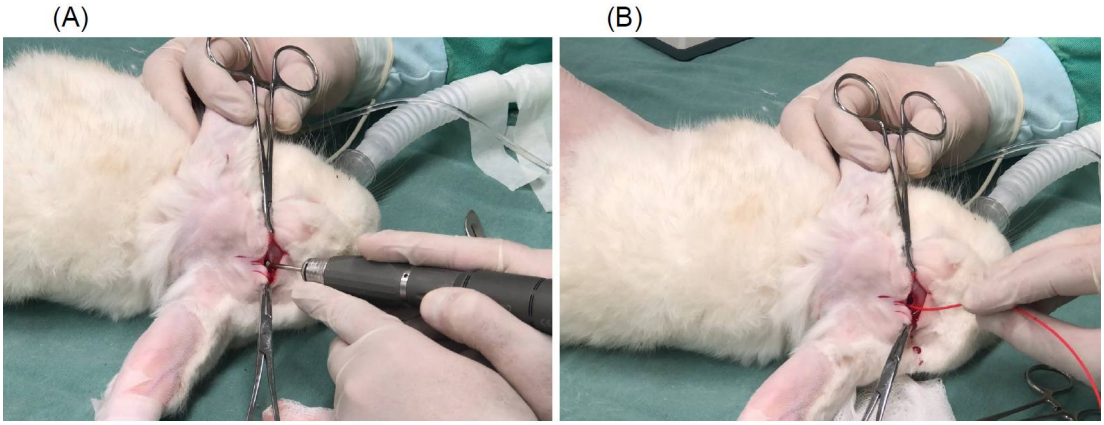


FIGURA 1 – Procedimento de indução da morte encefálica. (A) Trepanação cirúrgica realizada por broca na região fronto-parietal, na linha mediana do crânio. (B) Inserção intraparenquimatosa supratentorial de cateter com balão realizada “às cegas” para indução da morte encefálica por hipertensão intracraniana.

Após a indução da ME, a anestesia foi suspensa nos grupos B, C e D. Os animais do grupo A receberam doses extras de anestésico e analgésico para manutenção do plano anestésico ao longo de todo o tempo de avaliação.

Para evitar hipotermia, os animais foram aquecidos com colchão térmico e compressas quentes nas patas e orelhas. Todos receberam infusão das medicações de acordo com o previsto para cada grupo.

Os coelhos foram mantidos sob observação clínica, com controle da pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), saturação de oxigênio (Sat $O_2$) e temperatura retal por 4 horas. Após esse período, foi realizada a eutanásia com sobredose anestésica (tiopental sódio endovenoso, na dose de 150 mg/kg). Os órgãos foram retirados e armazenados em formol para posterior análise histológica.

**2.4 Análise Laboratorial e histológica**

Foram coletadas amostras sanguíneas para análise laboratorial no momento da indução anestésica e no final do experimento, com 4 horas de observação. Lactato, creatinofosfoquinase (CPK), sódio, potássio, glicose, hemoglobina, transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP) e amilase foram analisados. A análise laboratorial foi executada pelo centro de diagnóstico veterinário Bionostic (Curitiba – PR).

Após o término do experimento, os órgãos foram retirados em bloco, fotografados e fixados em recipientes com formaldeído a 10% e tampão fosfato.

Lâminas histológicas de fragmentos de fígado, rins, coração e pulmão foram preparadas com corante hematoxilina-eosina e digitalizadas com o scaner Axio Scan Z1 (Zeiss, Oberkochen, Germany). O exame das lâminas foi realizado no laboratório de Patologia da PUC-PR, de forma cega, por médico patologista. Nos rins, foram avaliados a área ocupada pelo glomérulo, considerando-se como limites a cápsula de Bowman; o tamanho das células epiteliais dos túbulos contornados proximais, medido pela distância linear entre a base e o ápice das células epiteliais tubulares; e o tamanho dos túbulos contornados proximais, avaliado pela distância linear do menor diâmetro de um corte transversal. No coração avaliou-se a área entre as fibras musculares e a área média da rede capilar vascular em relação à área do tecido miocárdico. Para o fígado, mensuramos o grau de esteatose micro e macrogoticular, avaliando-se a área ocupada por esses elementos em relação à área ocupada pelos hepatócitos na lâmina digitalizada; e a área total ocupada pelos sinusóides hepáticos em relação à área da imagem. No tecido pulmonar, foi avaliada a área alveolar média, a área total ocupada pelos capilares das paredes alveolares e em relação da área total capilar com a área total ocupada pelos alvéolos pulmonares. Dez campos de cada lâmina foram avaliados para se obter a média da variável por animal. A digitalização das lâminas e aferições histopatológicas foram realizadas pelo Software ZEN Blue Edition (Zeiss, Oberkochen, Germany) e Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Maryland, USA). Máscaras de cores diferentes foram aplicadas sobre cada lâmina para identificar a variável desejada e sua área foi calculada em $\mu m^2$, exceto a altura média da célula tubular renal, que foi medida linearmente e o diâmetro médio dos túbulos contornados proximais, que foi medido no menor diâmetro.

**2.5 Análise Estatística**

Os resultados da análise dos dados vitais e exames laboratoriais foram descritos em gráficos de linhas das médias e, as variáveis histológicas, em gráficos representativos da média e seu intervalo de confiança de 95%. Na comparação entre grupos, foi utilizado o ANOVA One-Way com teste *post- hoc* de Scheffe para as variáveis que apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias. Os parâmetros que não preencheram esses critérios foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis. A análise estatística foi realizada com o software IBM SPSS *Statistics* versão 22.0 e o nível de significância estipulado foi de 5% ($p$<0,05).

## 5 RESULTADOS

Um animal do grupo B apresentou parada cardíaca por instabilidade hemodinâmica na terceira hora da observação e seus dados foram excluídos da análise.

Os dados obtidos na observação dos dados vitais estão descritos na tabela a seguir.

| ANALISE PARÂMETROS CLÍNICOS | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| VARIÁVEL | GRUPO | ANÁLISE DESCRITIVA | | | *p* VALOR |
| | | Média | s | Mínima; Máxima; Mediana | |
| PAM (mmHg) | A ( N= 5 ) | 56,6 | 2,7 | ( 53; 60; 57 ) | 0,008[a] |
| | B (N= 4 ) | 45,5 | 5,06 | ( 39; 50; 46,5 ) | |
| | C ( N= 5 ) | 63,6 | 13,39 | ( 47; 81; 66 ) | |
| | D ( N= 5 ) | 71,2 | 21,44 | ( 52; 83; 74 ) | |
| FC (bpm) | A ( N= 5 ) | 170,4 | 29,26 | ( 134; 213; 166 ) | 0,104 |
| | B (N= 4 ) | 225,75 | 35,21 | ( 196; 273; 217 ) | |
| | C ( N= 5 ) | 225,8 | 19,31 | ( 199; 253; 227 ) | |
| | D ( N= 5 ) | 228 | 62,02 | ( 175; 334; 212 ) | |
| TEMP (°C) | A ( N= 5 ) | 37,58 | 0,38 | ( 37; 39,9; 37,7 ) | 0,009[b] |
| | B (N= 4 ) | 38,28 | 0,63 | ( 37,5; 38,8; 38,4 ) | |
| | C ( N= 5 ) | 39,08 | 0,57 | ( 38,6; 39,8; 38,8 ) | |
| | D ( N= 5 ) | 38,4 | 0,69 | ( 37,5; 39,4; 38,4 ) | |
| SAT O2 (%) | A ( N= 5 ) | 97 | 2,34 | ( 93; 99; 98 ) | 0,323 |
| | B (N= 4 ) | 90,75 | 8,26 | ( 79; 97; 93,5 ) | |
| | C ( N= 5 ) | 90,4 | 8,64 | ( 76; 98; 92 ) | |
| | D ( N= 5 ) | 94,2 | 2,77 | ( 90; 97; 95 ) | |

TABELA 1 – Dados vitais aferidos no experimento - Pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), Temperatura (TEMP), Saturação de oxigênio (SAT $O_2$). Divisão entre os grupos, com exposição da média global, valor mínimo, máximo, mediana e desvio padrão (s). A comparação entre os pares foi realizada para os parâmetros que demonstraram diferença estatística.

[a] Comparação entre os grupos: A-B: *p*=0,103; A-C: *p*=0,264, A-D: *p*=0,029; B-C: *p*=0,013; B-D: *p*=0,001; C-D: *p*=0,227.

[b] Comparação entre os grupos: A-B: *p*=0,095; A-C: *p*=0,001, A-D: *p*=0,042; B-C: *p*=0,057; B-D: *p*=0,753; C-D: *p*=0,085.

A análise dos dados vitais demonstrou que a temperatura dos três grupos submetidos à ME (B, C e D) foi significativamente superior à do grupo A, com

*p*=0,009 (FIGURA 2A). No grupo D a PAM foi maior que dos demais (*p*=0,008) e os animais desse grupo não necessitaram de infusão de noradrenalina para controle hemodinâmico (FIGURA 2D). Não houve diferença significativa quanto a FC e Sat $O_2$ (FIGURA 2B,C).

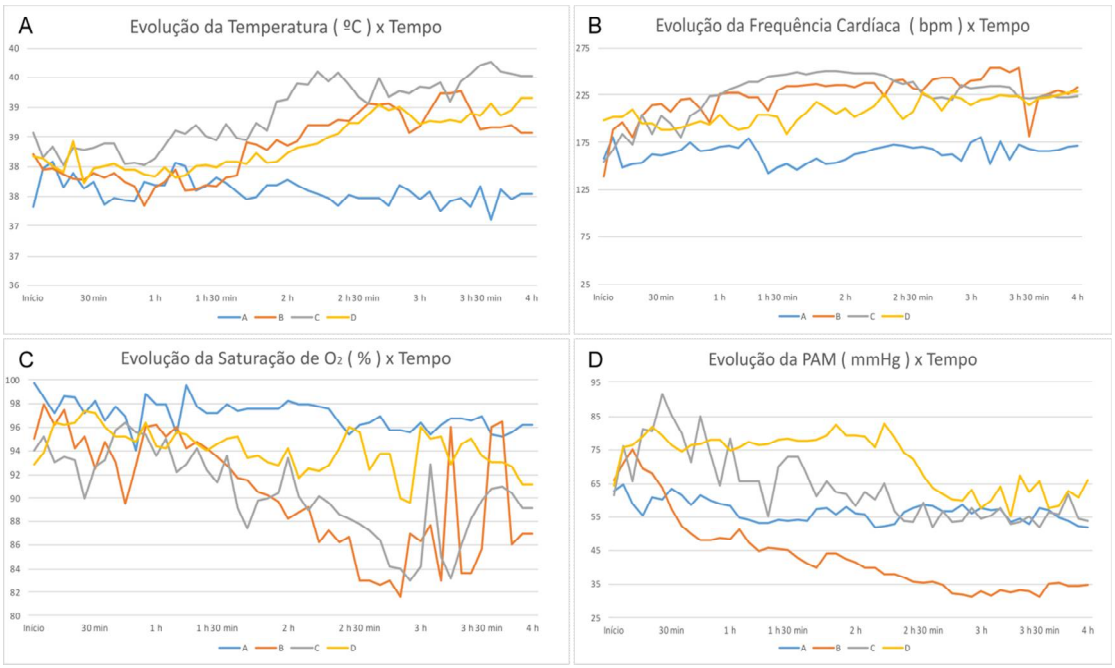


FIGURA 2 – Evolução dos dados vitais ao longo do tempo de experimento – comparação entre os grupos. (A) Temperatura. (B) FC. (C) Sat $O_2$. (D) PAM.

Os dados das intervenções hemodinâmicas estre os grupos estão expressos na tabela 2.

| ANÁLISE DAS INTERVENÇÕES HEMODINÂMICAS | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| VARIÁVEL | GRUPO | ANÁLISE DESCRITIVA | | | DELTA % GRUPO x A | *p* VALOR |
| | | Média | s | Mínima; Máxima; Mediana | | |
| NÚMERO DE INFUSÕES DE FLUIDO | A ( N= 5 ) | 2,2 | 1,3 | ( 1; 4; 2 ) | - | 0,014[a] |
| | B (N= 4 ) | 7,5 | 1,7 | ( 6; 10; 7 ) | 341% | |
| | C ( N= 5 ) | 8 | 5,5 | ( 4; 12; 8 ) | 364% | |
| | D ( N= 5 ) | 5 | 3 | ( 2; 8; 5 ) | 227% | |
| VOLUME TOTAL DE FLUIDO (mL/kg) | A ( N= 5 ) | 10,5 | 7,51 | ( 2,5; 18,5; 9 ) | - | 0,032[b] |
| | B (N= 4 ) | 31,57 | 9,68 | ( 21,9; 45;29,6 ) | 301% | |
| | C ( N= 5 ) | 24,22 | 11,87 | ( 11,9; 38; 23,4 ) | 231% | |
| | D ( N= 5 ) | 17,53 | 9,49 | ( 5,1; 29,19; 14,8 ) | 167% | |

TABELA 2 – Análise das intervenções hemodinâmicas. Divisão entre os grupos, com exposição da média global, valor mínimo, máximo, mediana e desvio padrão (s). Variação dos valores do grupo estudado em comparação com o grupo A expressa em porcentagem. A comparação entre os grupos foi realizada para os parâmetros avaliados.

[a] Comparação entre os grupos: A-B: $p$=0,007; A-C: $p$=0,004, A-D: $p$=0,108; B-C: $p$=0,984; B-D: $p$=0,234; C-D: $p$=0,214.

[b] Comparação entre os grupos: A-B: $p$=0,006; A-C: $p$=0,042, A-D: $p$=0,273; B-C: $p$=0,280; B-D: $p$=0,049; C-D: $p$=0,296.

Houve necessidade de menor quantidade e menor número de infusões de fluidos para controle hemodinâmico no grupo D. O grupo B necessitou 3 vezes mais fluidos ($p$=0,006) e de 3,4 vezes mais infusões que o grupo A ($p$=0,007), enquanto, no grupo C, a quantidade de volume foi 2,3 vezes maior ($p$=0,042) e o número de infusões 3,6 vezes superior ($p$=0,004). O grupo D recebeu 2,2 vezes mais infusões que o grupo A ($p$=0,108) e 1,6 vezes mais fluidos ($p$=0,273).

Os resultados obtidos nos exames laboratoriais estão descritos na tabela 3.

| ANÁLISE DOS PARÂMETROS LABORATORIAIS | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VARIÁVEL | GRUPO | MOMENTO DA COLETA | | | | | | DELTA % | *p* VALOR DELTA |
| | | INÍCIO DO EXPERIMENTO | | | TÉRMINO DO EXPERIMENTO | | | | |
| | | Média | s | Mínima; Máxima; Mediana | Média | s | Mínima; Máxima; Mediana | | |
| GLICOSE | A ( N= 5 ) | 214,96 | 70,1 | ( 114; 282; 205,8 ) | 144,8 | 55,52 | ( 116; 244; 120 ) | -33% | 0,016[a] |
| | B (N= 4 ) | 230,25 | 52,44 | ( 167; 293; 230,5 ) | 110,75 | 21,74 | ( 83; 130; 115 ) | -52% | |
| | C ( N= 5 ) | 202,2 | 45,3 | ( 154; 263; 186 ) | 227,2 | 98,23 | ( 112; 348; 246 ) | 12% | |
| | D ( N= 5 ) | 250,86 | 44,79 | ( 204; 316; 246 ) | 172,2 | 53,08 | ( 112; 252; 156 ) | -31% | |
| SÓDIO | A ( N= 4 ) | 140,35 | 1,7 | ( 139; 143; 140,5 ) | 143,92 | 1,42 | ( 142; 145; 144,3 ) | 3% | 0,021[b] |
| | B (N= 4 ) | 137,23 | 4,08 | ( 132; 140,9; 138 ) | 145,75 | 6,39 | ( 139; 153; 145,5 ) | 6% | |
| | C ( N= 4 ) | 139,75 | 1,25 | ( 138; 141; 140 ) | 141,62 | 3,81 | ( 138; 147; 140,75 ) | 1% | |
| | D ( N= 5 ) | 140,4 | 7,89 | ( 134; 154; 137) | 138,4 | 1,81 | ( 136; 141; 138 ) | -1% | |
| LACTATO | A ( N= 4 ) | 1,3 | 0,95 | ( 0,7; 2,7; 0,9 ) | 0,47 | 0,09 | ( 0,4; 0,6; 0,45 ) | -64% | 0,401 |
| | B (N= 4 ) | 1,6 | 0,66 | ( 0,7; 2,3; 1,7 ) | 1,9 | 1,76 | ( 0,6; 4,5; 1,25) | 19% | |
| | C ( N= 5 ) | 0,92 | 0,38 | ( 0,7; 1,6; 0,8 ) | 0,7 | 0,24 | ( 0,4; 1; 0,6 ) | -24% | |
| | D ( N= 5 ) | 1,12 | 0,48 | ( 0,7; 1,0; 0,8 ) | 0,88 | 0,41 | ( 0,4; 1,4; 0,8) | -21% | |
| POTÁSSIO | A ( N= 5 ) | 3,26 | 0,57 | ( 2,5; 3,7; 3,6 ) | 4 | 0,65 | ( 3,2; 4,9; 4 ) | 23% | 0,187 |
| | B (N= 4 ) | 3,11 | 0,41 | ( 2,5; 3,4; 3,3 ) | 5,95 | 2,77 | ( 3,6; 9,4; 5,4 ) | 91% | |
| | C ( N= 5 ) | 3,18 | 0,27 | ( 2,7; 3,4; 3,3 ) | 5,84 | 2,88 | ( 3,9; 10,9; 4,6 ) | 84% | |
| | D ( N= 5 ) | 3,32 | 0,259 | ( 3; 3,7; 3,3 ) | 4,64 | 1,66 | ( 3,6; 7,6; 3,9 ) | 40% | |
| TGO | A ( N= 5 ) | 29,22 | 21,32 | ( 13,5; 64,3; 19,6 ) | 35,18 | 19,35 | ( 18,7; 57; 24,5 ) | 20% | 0,636 |
| | B (N= 4 ) | 27,46 | 13,25 | ( 16,7; 46,7; 23,3 ) | 44,36 | 38,14 | ( 22; 101,3; 27,1 ) | 62% | |
| | C ( N= 5 ) | 27,1 | 11,48 | ( 17,9; 41,2; 19,6 ) | 32,74 | 15,82 | ( 14,3; 51,1; 39,3 ) | 21% | |
| | D ( N= 5 ) | 42,3 | 15,77 | ( 21,1; 61,6; 47,1 ) | 43,74 | 8,81 | ( 32,4; 53; 45,7 ) | 3% | |
| TGP | A ( N= 5 ) | 59,16 | 28,58 | ( 34; 107,7; 52,5 ) | 44,34 | 21,85 | ( 26,1; 81,5; 39,9 ) | -25% | 0,675 |
| | B (N= 4 ) | 64,13 | 2,7 | ( 61,1; 66,6; 64,4 ) | 47,13 | 4,24 | ( 41,2; 50,3; 48,5 ) | -27% | |
| | C ( N= 5 ) | 71,22 | 16,97 | ( 54,7; 90,7; 68,5 ) | 59,4 | 17,99 | ( 37,2; 78; 54,6 ) | -17% | |
| | D ( N= 5 ) | 62,66 | 22,82 | ( 30,6; 91,6; 67,3 ) | 48,88 | 20,37 | ( 23,1; 79,4; 46,2 ) | -22% | |
| CPK | A ( N= 5 ) | 2283,94 | 1607,2 | ( 893,5; 4857,9; 1944,8 ) | 5244,78 | 2158,8 | ( 2032; 7756,4; 5040,8 ) | 130% | 0,133 |
| | B (N= 4 ) | 1753,4 | 739,58 | ( 813; 2620,7; 1789,95) | 3305,25 | 983,54 | ( 2534,7; 4646,8; 3019,7 ) | 89% | |
| | C ( N= 5 ) | 2623,7 | 2303,94 | ( 1124; 6714,2; 1806,3 ) | 3975,2 | 1882,76 | ( 2852,4; 7325,9; 3254,8 ) | 52% | |
| | D ( N= 5 ) | 3240,28 | 1896,64 | ( 690,7; 5221,7; 4219,9 ) | 5963,32 | 2909,4 | ( 3035,8; 9567,2; 6098 ) | 84% | |
| AMILASE | A ( N= 5 ) | 236,82 | 70,91 | ( 172,8; 340,8; 210,8 ) | 141,81 | 47,22 | ( 74,9; 202,30; 144,2 ) | -40% | 0,15 |
| | B (N= 4 ) | 218,5 | 34,14 | ( 170,8; 246,2; 228,4 ) | 199,31 | 77,78 | ( 111,4; 300,9; 192,4 ) | -9% | |
| | C ( N= 5 ) | 244,36 | 48,35 | ( 179,2; 306,33; 253,3 ) | 309,44 | 269,32 | ( 103,9; 772,7; 181,7 ) | 27% | |
| | D ( N= 5 ) | 227,61 | 28,16 | ( 191,1; 257,3; 229,9 ) | 151,59 | 12,59 | ( 126,5; 192,2; 148,5 ) | -33% | |
| HB | A ( N= 5 ) | 10,55 | 0,86 | ( 9,3; 11,7; 10,6 ) | 9,35 | 1,16 | ( 7,4; 10,3; 9,8 ) | -11% | 0,82 |
| | B (N= 4 ) | 10,14 | 0,53 | ( 9,6; 10,9; 9,9 ) | 9,46 | 1,2 | ( 8,2; 10,9; 9,4 ) | -7% | |
| | C ( N= 5 ) | 10,94 | 1,01 | ( 9,84; 12,4; 10,7 ) | 10,11 | 1 | ( 8,9; 11,4; 9,8 ) | -8% | |
| | D ( N= 5 ) | 9,96 | 2,11 | ( 7,61; 12,6; 10,6 ) | 9,19 | 1,56 | ( 7,5; 11,1; 8,8 ) | -8% | |

TABELA 3 – Análise dos parâmetros laboratoriais. Divisão entre os grupos, com exposição da média global, valor mínimo, máximo, mediana e desvio padrão (s) para o início e término do experimento. Delta % - variação do parâmetro entre o momento inicial e final do experimento. A comparação entre os grupos com a diferença expressa pelo valor de *p*.

[a] Comparação entre os grupos: A-B: *p*=0,218; A-C: *p*=0,026, A-D: *p*=0,938; B-C: *p*=0,003; B-D: *p*=0,245; C-D: *p*=0,023.

[b] Comparação entre os grupos: A-B: *p*=0,086; A-C: *p*=0,528, A-D: *p*=0,242; B-C: *p*=0,019; B-D: *p*=0,003; C-D: *p*=0,615.

Na análise laboratorial, houve aumento dos valores médios de sódio no grupo B entre o início e o final do experimento (*p*=0,021). Também houve aumento na

variação de glicose entre esses momentos no grupo C, quando comparado aos demais grupos (*p*=0,016). Lactato, potássio, TGO, TGP, amilase, CPK e hemoglobina não mostraram diferenças entre os grupos (FIGURA 3).

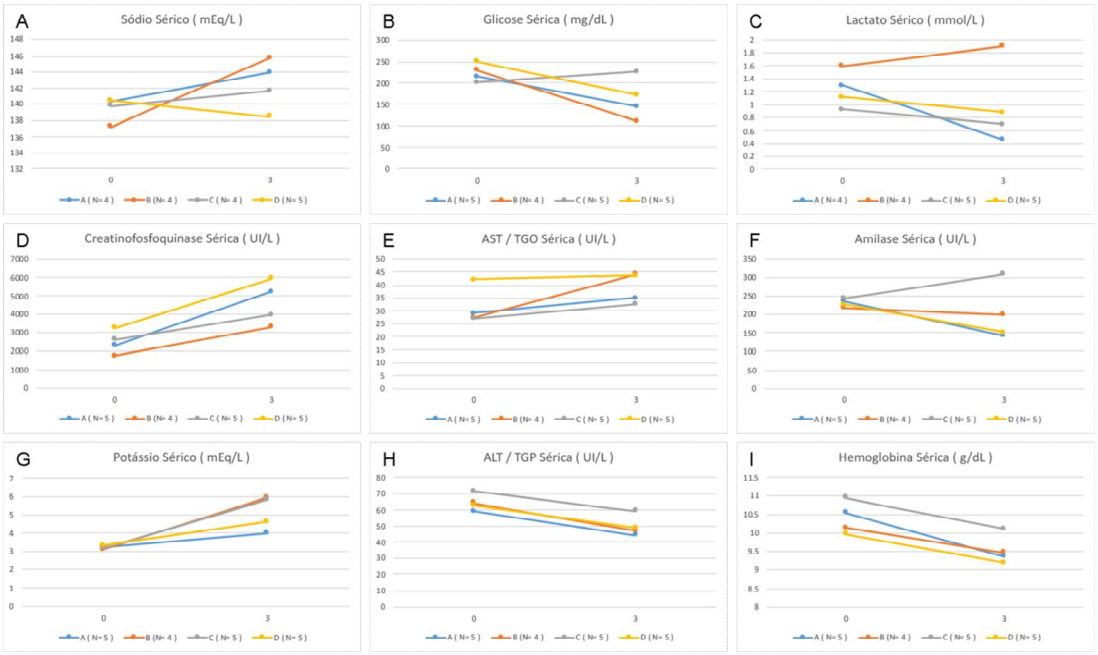


FIGURA 3 – Variação dos dados laboratoriais entre o início e o término do experimento. Momento 0 – indução anestésica. Momento 3 – término do experimento (4 horas de observação). (A) Sódio. (B) Glicose. (C) Lactato. (D) CPK. (E) TGO. (F) Amilase. (G) Potássio. (H) TGP. (I) Hemoglobina.

Houve diferença na análise histológica de rins, coração e fígado. A análise dos dados histológicos está exposta na tabela 4.

| ANALISE DOS PARÂMETROS HISTOLÓGICOS | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ÓRGÃO | VARIÁVEL | GRUPO | ANÁLISE DESCRITIVA | | | *p* VALOR |
| | | | Média | s | Mínimo; Máximo; Mediana | |
| RIM | Área Glomerular Média ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 504,36 | 116,91 | ( 366,4; 653,6; 466,0 ) | 0,525 |
| | | B (N= 4 ) | 689,87 | 180,9 | ( 455,2; 729,9; 680,8 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 576,81 | 421,12 | ( 156,1; 1191,6; 384,3 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 601,65 | 277,25 | ( 205; 877,7; 617,8 ) | |
| | Diâmetro Médio do TCP* (µm) | A ( N= 5 ) | 50,77 | 0,87 | ( 46,6; 57,3; 50,4 ) | 0,515 |
| | | B (N= 4 ) | 46,28 | 0,44 | ( 44,4; 51,5; 44,6 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 49,36 | 1,12 | ( 42,3; 57,4; 45,5 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 48,84 | 1,57 | ( 41,5; 52,3; 50 ) | |
| | Altura Média da CTR** (µm) | A ( N= 5 ) | 5,02 | 0,37 | ( 4,6; 5,4; 5 ) | 0,001[a] |
| | | B (N= 4 ) | 5,48 | 0,26 | ( 5,1; 5,5; 5,4 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 5,81 | 0,35 | ( 5,4; 6,3; 5,8 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 4,59 | 0,44 | ( 4; 5,2; 4,6 ) | |
| CORAÇÃO | Área entre Fibras Musculares ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 1370,06 | 1335,73 | ( 22,7; 3403,3; 1224,3 ) | 0,482 |
| | | B (N= 4 ) | 3207,8 | 2117,03 | ( 1227; 5097,5; 4977,6 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 1626,32 | 429,92 | ( 879,6; 1952,3; 1716,9 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 3743,78 | 3696,2 | ( 774,1; 10119,2; 2961,7 ) | |
| | Área Média dos Capilares ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 676,38 | 477,03 | ( 269,2; 1459,4; 640,9 ) | 0,022[b] |
| | | B (N= 4 ) | 3730,83 | 1843,88 | ( 1032,4; 4581,6; 4160,5 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 2557,73 | 1624,42 | ( 1038,9; 4417,9; 2177,8 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 2084,02 | 918,85 | ( 1236,1; 3527,6; 2040,4 ) | |
| FÍGADO | Área Média do Sinusóide ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 2793,84 | 1896,95 | ( 992,3; 5844,8; 2599,5 ) | 0,809 |
| | | B (N= 4 ) | 3776,59 | 1962,02 | ( 2089,9; 4241,3; 2420,1 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 3548,43 | 1505,6 | ( 1557,7; 5296; 3534 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 3449,95 | 995,87 | ( 1962; 4553,6; 3681,3 ) | |
| | Área Média daEsteatose Média ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 208,02 | 148,49 | ( 30,5; 437,9; 190 ) | 0,017[c] |
| | | B (N= 4 ) | 1696,7 | 1147,96 | ( 619,4; 3217,8; 1038,4 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 649,4 | 486,37 | ( 199; 1429,3; 648,9 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 562,63 | 208,16 | ( 315,9; 728,1; 695,6 ) | |
| PULMÃO | Área Alveolar Média ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 13069,37 | 3164 | ( 9924,3; 16961,8; 11576,3 ) | 0,152 |
| | | B (N= 3 ) | 10704,25 | 3012,39 | ( 7508,5; 13491,6; 11112,5 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 9288,98 | 1687,42 | ( 7575,5; 11833,6; 9534,6 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 10959,78 | 1777,53 | ( 8944,6; 13047,7; 10933,6 ) | |
| | Área Média dos Capilares Alveolares ($\mu m^2$) | A ( N= 5 ) | 2678,68 | 1283,01 | ( 891,2; 4230,2; 2469,8 ) | 0,421 |
| | | B (N= 3 ) | 1746,88 | 447,67 | ( 1256,0; 2132,7; 1851,9 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 3093,02 | 677,67 | ( 2215,5; 3804; 2951 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 2374,08 | 1429,38 | ( 1001,8; 4104,2; 1741,7 ) | |
| | Relação entre a Área Capilar e a Área Alveolar | A ( N= 5 ) | 0,234 | 0,15 | ( 0,05; 0,44; 0,19 ) | 0,169 |
| | | B (N= 3 ) | 0,18 | 0,02 | ( 0,15; 0,20; 0,19 ) | |
| | | C ( N= 5 ) | 0,392 | 0,13 | ( 0,21; 0,53; 0,38 ) | |
| | | D ( N= 5 ) | 0,234 | 0,15 | ( 0,08; 0,41; 0,14 ) | |

TABELA 4 – Análise dos parâmetros histológicos. Divisão entre os grupos, com exposição da média global, valor mínimo, máximo, mediana e desvio padrão (s) para o início e término do experimento. A comparação entre os grupos com a diferença expressa pelo valor de *p*.

*****Túbulos contornados proximais

******Célula tubular renal

[a] Comparação entre os grupos: A-B: $p$=0,083; A-C: $p$=0,004, A-D: $p$=0,088; B-C: $p$=0,207; B-D: $p$=0,003; C-D: $p$<0,001.

[b] Comparação entre os grupos: A-B: $p$=0,003; A-C: $p$=0,036, A-D: $p$=0,106; B-C: $p$=0,196; B-D: $p$=0,077; C-D: $p$=0,571.

[c] Comparação entre os grupos: A-B: *p*=0,002; A-C: *p*=0,092, A-D: *p*=0,038; B-C: *p*=0,128; B-D: *p*=0,249; C-D: *p*=0,694.

Quando comparada a altura média das células tubulares renais entre os quatro grupos, houve diferença significativa (*p*=0,001). Nos animais do grupo D foram identificados tamanhos de células tubulares renais menores que os animais dos grupos B e C (*p*=0,003 e *p*<0,001 respectivamente). Entretanto, não houve diferença do grupo D em relação ao grupo A (*p*=0,088). Os animais do grupo C apresentaram média maior que os animais do grupo A para esse parâmetro (*p*=0,004). Esses dados estão expressos na figura 4A. Em relação à área média dos capilares cardíacos, houve diferença quando comparados os quatro grupos (*p*=0,022). O grupo A apresentou média menor em relação aos grupos B (*p*=0,003) e C (*p*=0,036), enquanto os grupos A e D foram semelhantes entre si (*p*=0,106) (FIGURA 4B). No que tange à área média de esteatose hepática, a comparação entre os quatro grupos encontrou diferença (*p*=0,017). Embora na análise pareada não tenha ocorrido diferença significativa entre os grupos B, C e D, observa-se que o grupo D apresentou a menor média de esteatose entre eles (562,6 $\mu m^2$), sendo a mais próxima da média do grupo A (208,0 $\mu m^2$) (FIGURA 4C). Não houve diferença nos demais parâmetros histológicos analisados.

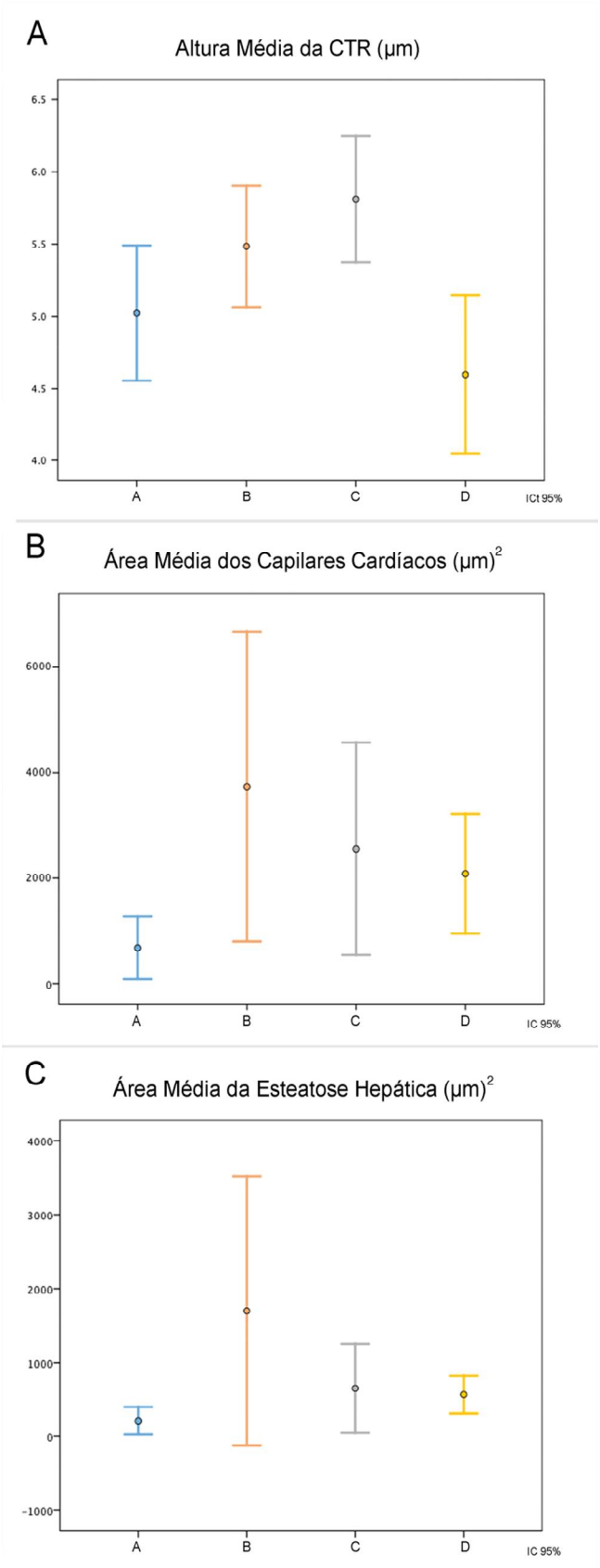
A
Altura Média da CTR (µm)
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
A
B
C
D
IC 95%
B
Área Média dos Capilares Cardíacos (µm)2
6000
4000
2000
0
A
B
C
D
IC 95%
C
Área Média da Esteatose Hepática (µm)2
4000
3000
2000
1000
0
-1000
A
B
C
D
IC 95%

FIGURA 4 – Comparação dos dados histológicos entre os grupos. Na abscissa, os grupos estudados, com os resultados expressos pela média (ponto central) e seu intervalo de confiança de 95%. Gráfico (A) Altura Média da Célula Tubular Renal (CTR) (B) Área Média dos Capilares Cardíacos. Gráfico (C) Área Média da Esteatose Hepática.

As figuras 5, 6 e 7 ilustram as alterações histológicas encontradas.

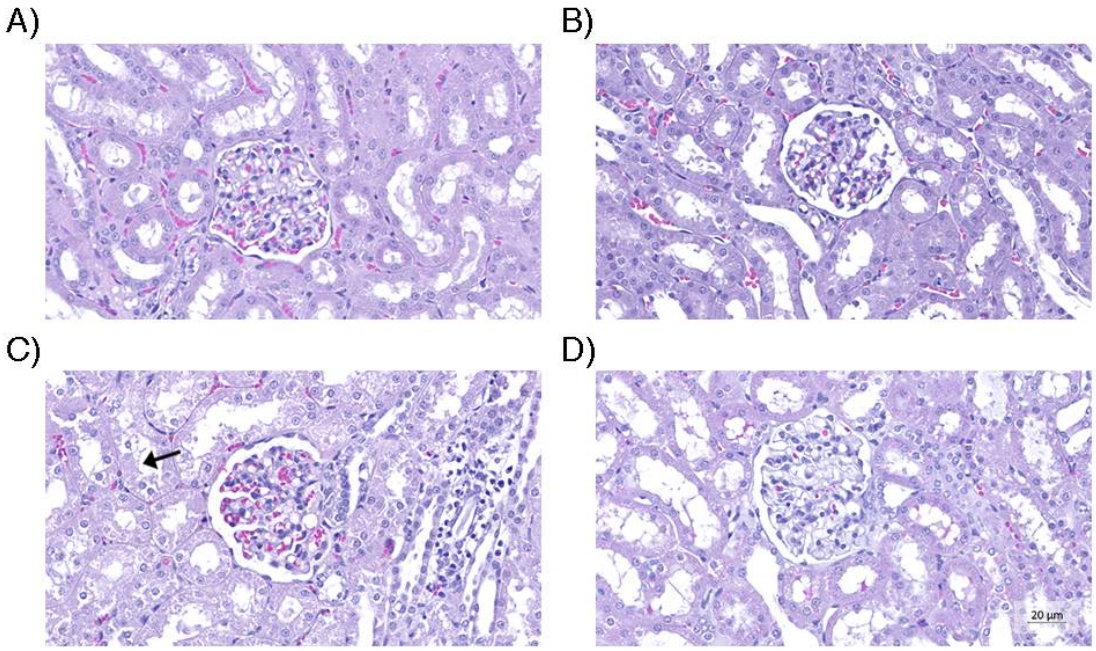


FIGURA 5 – Tecido renal de coelhos do estudo. A) Grupo controle contendo glomérulo e células tubulares normais; B) Grupo sem uso de vasopressores, contendo células tubulares maiores, com maior grau de edema; C) Rim de coelho que recebeu apenas norepinefrina, com aumento celular e edema das células tubulares (seta), semelhante ao grupo B; D) Coelho que recebeu a estratégia otimizada, em que os parâmetros morfométricos ficaram semelhantes ao do grupo controle. Hematoxilina e eosina (Magnificação original, 200x).

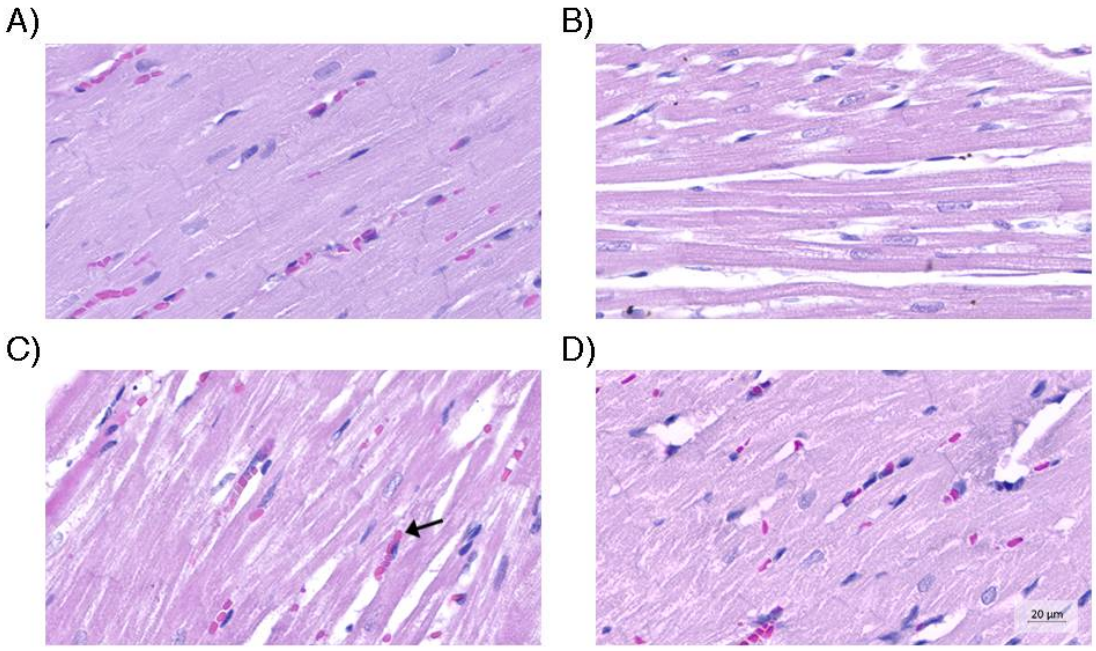


FIGURA 6 – Miocárdio de animais do estudo. A) Tecido miocárdico do grupo controle, dentro dos parâmetros de normalidade; B) Miocárdio do grupo sem uso de vasopressores com aumento da congestão capilar; C) Miocárdio do grupo com uso de norepinefrina contendo capilares com congestão (seta) semelhante ao grupo B; D) Miocárdio de coelho do grupo com estratégia otimizada contendo capilares com características semelhantes às observadas no grupo controle. Hematoxilina e eosina (Magnificação original, 200x).

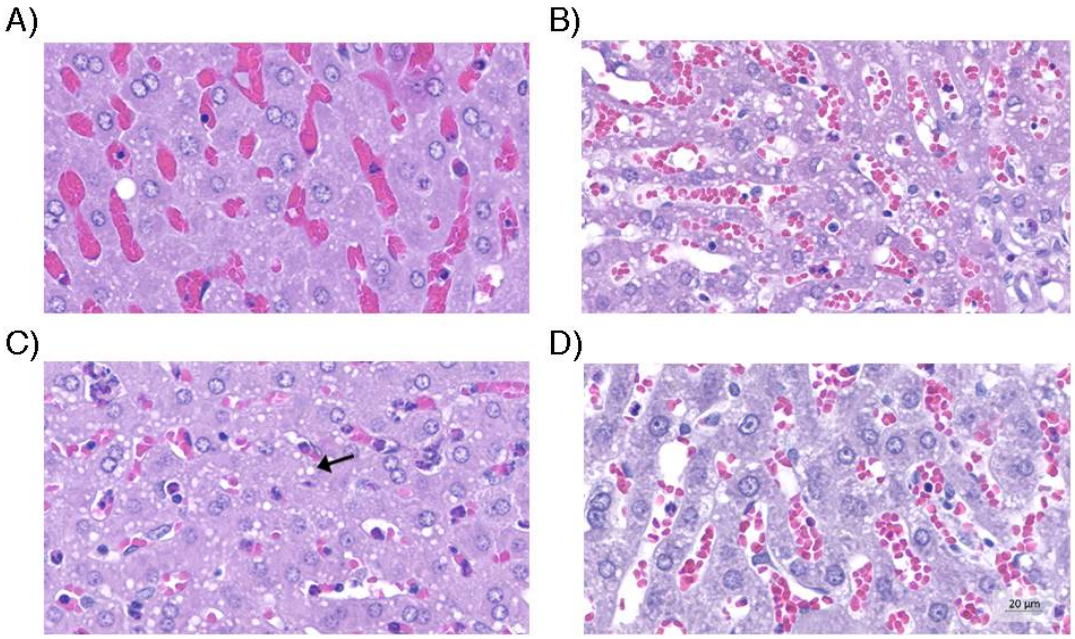


FIGURA 7 - Tecido hepático de animais do estudo. A) Grupo controle com hepatócitos sem indícios de esteatose. B) Tecido hepático de coelho do grupo sem uso de vasopressores com esteatose microgoticular; D) Grupo com uso de norepinefrina, com grau de esteatose (seta) semelhante estatisticamente ao grupo sem uso de vasopressores; D) Grupo com estratégia otimizada em que o grau de esteatose foi mínimo, próximo do observado no grupo controle. Hematoxilina e eosina (Magnificação original, 200x).

## 6 DISCUSSÃO

Na prática clínica habitual, os pacientes em ME são validados como potenciais doadores com base em sua história clínica, dados vitais ao longo do tempo e exames laboratoriais que possam demonstrar alguma lesão nos órgãos-alvo. (22) O estudo avaliou três estratégias terapêuticas distintas de cuidados com o potencial doador (grupos B, C e D) comumente utilizadas na prática clínica, e verificou sua repercussão em parâmetros usados como rotina para aceitação do órgão, o que reflete sua validade externa.

Em relação aos dados vitais, todos os grupos submetidos à ME apresentaram pico da pressão arterial logo após o procedimento. Esse fenômeno é conhecido e se deve ao aumento dos níveis de norepinefrina, adrenalina e dopamina que acontecem logo após a ME, aumentando a PAM transitoriamente. (5,8,9,21) Após esse período, os animais evoluíram com hipotensão, tratada conforme o protocolo

de cada grupo. O grupo B, por não receber nenhum vasopressor, cursou com deterioração hemodinâmica progressiva, o que culminou, inclusive, com a parada cardíaca de um dos animais. Os animais do grupo D ficaram mais estáveis hemodinamicamente ao longo do tempo quando comparados ao grupo C, já que apresentaram maior PAM (Figura 2D), menor necessidade de fluidos e menor número de intervenções para manter a estabilidade. A FC desse grupo foi menor (Figura 2B), indicando que esses animais permaneceram mais compensados hemodinamicamente. Esses achados poderiam ser explicados pela rápida depleção dos níveis de vasopressina, além de queda de cortisol e dos hormônios tireoidianos. (8,19,23) No grupo D, entretanto, a reposição de vasopressina, corticoide e hormônio tireoidiano, embora controversa (14), parece ter facilitado o controle hemodinâmico. (5,9,24) Apesar de não termos encontrado diferença significativa, os dados mostram que a Sat $O_2$ do grupo D foi superior aos grupos B e C (Figura 2C), condição que pode ser explicada pela melhor perfusão e menor necessidade de infusão de volume, o que evita congestão e melhora a troca gasosa. (5) Além disso, há relato prévio do uso de corticoide melhorar a oxigenação nos potenciais doadores de pulmão (25), apesar das evidências atuais não sustentarem sua utilização. (26) A elevação da temperatura encontrada nos grupos B, C e D (Figura 2A) decorre da perda da autorregulação hipotalâmica causada pela lesão encefálica. (27,28) Na maioria dos casos, ocorre hipotermia, mas como no estudo houve aquecimento ativo dos animais a fim de evitar arritmias e descontrole hemodinâmico (1,14,29), ocorreu hipertermia. O grupo controle, como teve a autorregulação preservada, manteve sua temperatura estável apesar do aquecimento externo.

A hipernatremia pós ME é explicada por vários mecanismos: depleção de vasopressina e indução de *diabetes insipidus*, desidratação e uso de soluções hiperosmolares. (8,15) Esse achado da literatura foi compatível com o ocorrido no grupo B e C (Figura 3A). O grupo D, que recebeu vasopressina no seu tratamento, não cursou com hipernatremia, o que contribuiu para a maior estabilidade hemodinâmica do grupo, conforme já descrito previamente. (23) Na descrição da fisiopatologia da ME, há a diminuição dos níveis de insulina, o que, agravado pela condição criticamente enferma do paciente, predispõe à hiperglicemia. (5,30) Há relatos de associação entre o controle da glicemia e o aumento do número de órgãos doados por paciente, além da melhora da qualidade de enxertos renais. (30,31) No que tange às variações de glicemia, não houve dados significantes

exceto os do grupo C (Figura 3B). Esses animais receberam no seu tratamento norepinefrina, que tem como um dos efeitos a hiperglicemia. (32,33) A hiperglicemia não foi encontrada no grupo D, que utilizou vasopressina como vasopressor de escolha. Entre os dados que não demonstraram significância estatística, há destaque para o lactato, que demonstrou uma tendência de aumento no grupo B quando comparado aos demais (Figura 3C). Essa variação era esperada, visto que esses animais não receberam tratamento vasopressor e evoluíram com hipotensão mais grave (Figura 2D). (34)

Os parâmetros histológicos avaliados demonstram hipoperfusão e isquemia precoce. (35–37) Quando avaliamos a altura média da célula tubular renal, a área média dos capilares cardíacos e a área média de esteatose hepática, o grupo D foi o que mais se aproximou do grupo A dentre os grupos de intervenção, gerando significância estatística. Esse achado condiz com a maior estabilidade clínica dos animais desse grupo, com repercussão na perfusão regional de rins, fígado e coração.

É relevante o fato das alterações histológicas serem detectadas sem alteração significativa dos exames laboratoriais comumente utilizados para a validação dos órgãos para transplante. Esse fato sugere que as alterações bioquímicas são marcadores tardios de lesão tecidual.

O nosso estudo possui significativas limitações. Por ser um estudo experimental com foco nas primeiras horas após o evento de ME, alguns resultados não demonstraram diferenças entre os grupos. Além disso, a extrapolação de achados experimentais para o contexto clínico requer análise criteriosa. Futuros trabalhos ampliando o tempo de observação podem obter significância em parâmetros adicionais.

Os dados demonstraram que a estratégia otimizada de manejo clínico (infusão de cristaloide + vasopressina + levotiroxina + metilprednisolona + NA se hipotensão) permitiu maior estabilidade hemodinâmica e melhor controle dos valores de sódio e glicose, diminuindo sinais isquêmicos agudos no tecido renal, cardíaco e hepático.

## 7 AGRADECIMENTOS

À equipe do Laboratório de Técnica Operatória da PUC PR, ao laboratório veterinário Bionostic.

## 8 REFERÊNCIAS

1. Youn TS, Greer DM. Brain Death and Management of a Potential Organ Donor in the Intensive Care Unit. Crit Care Clin. 2014;30(4):813–31.
2. Malinoski DJ, Daly MC, Patel MS, Oley-Graybill C, Foster CE, Salim A. Achieving donor management goals before deceased donor procurement is associated with more organs transplanted per donor. J Trauma - Inj Infect Crit Care. 2011;71(4):990–5.
3. Azarpira N, Nikeghbalian S, Kazemi K, Geramizadeh B, Malekpour Z, Malek-Hosseini SA. Association of increased plasma interleukin-6 and TNF-α levels in donors with the complication rates in liver transplant recipients. Int J Organ Transplant Med. 2013;4(1):9–14.
4. Da Silva IRF, Frontera JA. Worldwide barriers to organ donation. JAMA Neurol. 2015;72(1):112–8.
5. Bugge JF. Brain death and its implications for management of the potential organ donor. Acta Anaesthesiol Scand. 2009;53(10):1239–50.
6. Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. Acta Anaesthesiol Scand. 2009;53(4):425–35.
7. Domínguez-Roldán JM, García-Alfaro C, Jimenéz-González PI, Hernández-Hazañas F, Gascón Castillo ML, Egea Guerrero JJ. Muerte encefálica: repercusión sobre órganos y tejidos. Med Intensiva. 2009;33(9):434–41.
8. Chen EP, Bittner HB, Kendall SW, Van Trigt P. Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death. Crit Care Med. 1996;24(8):1352–9.
9. Floerchinger B, Oberhuber R, Tullius SG. Effects of brain death on organ quality and transplant outcome. Transplant Rev. 2012;26(2):54–9.
10. McKeown DW, Bonser RS, Kellum JA. Management of the heartbeating brain-dead organ donor. Br J Anaesth. 2012;108(SUPPL. 1):96–107.

11. Matesanz R, Domínguez-Gil B, Coll E, Mahíllo B, Marazuela R. How Spain Reached 40 Deceased Organ Donors per Million Population. Am J Transplant. 2017;17(6):1447–54.
12. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, Zaclikevis VR, Bartz MCM, Wanzuita R et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido. Parte I. Aspectos gerais e suporte hemodinâmico. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(3):1–14.
13. Ranasinghe AM, Bonser RS. Endocrine changes in brain death and transplantation. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25(5):799–812.
14. Meyfroidt G, Gunst J, Martin-Loeches I, Smith M, Robba C, Taccone FS, et al. Management of the brain-dead donor in the ICU: general and specific therapy to improve transplantable organ quality. Intensive Care Med. 2019;45(3):343–53.
15. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, Zaclikevis VR, Bartz MCM, Wanzuita R et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido: parte II. Ventilação mecânica, controle endócrino metabólico e aspectos hematológicos e infecciosos. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(47):269–82.
16. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, Zaclikevis VR, Bartz MCM, Wanzuita R et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido: Parte III. Recomendações órgãos específicas. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(4):410–25.
17. Mascia L, Pasero D, Slutsky AS, Arguis MJ, Berardino M, Grasso S, et al. Effect of a Lung Protective Strategy for Organ Donors on Eligibility and Availability of Lungs for Transplantation. JAMA. 2010;304(23):2620–7.
18. Murugan R, Venkataraman R, Wahed AS, Elder M, Carter M, Madden NJ, et al. Preload responsiveness is associated with increased interleukin-6 and lower organ yield from brain-dead donors*. Crit Care Med. 2009;37(8):2387–93.
19. Dimopoulou I, Tsagarakis S, Anthi A, Milou E, Ilias I, Stavrakaki K, et al. High prevalence of decreased cortisol reserve in brain-dead potential organ donors. Crit Care Med. 2003;31(4):1113–7.
20. Fonseca, Neuber Martins; Goldenberg, Saul; Gomes, Paulo de Oliveira; Lima CA de P. Anestesia em coelhos / Anesthesia in rabbits. Acta Cir Bras. 1996;11(2):82–104.

21. Biswas SS, Chen EP, Bittner HB, Davis RD, Van Trigt P. Brain death further promotes ischemic reperfusion injury of the rabbit myocardium. Ann Thorac Surg. 1996;62(6):1808–15.
22. Westphal GA, Garcia VD, De Souza RL, Franke CA, Vieira KD, Birckholz VRZ, et al. Guidelines for the assessment and acceptance of potential brain-dead organ donors. Rev Bras Ter Intensiva. 2016;28(3):220–55.
23. Chen JM, Cullinane S, Spanier TB, Artrip JH, John R, Edwards NM, Oz MC LD. Vasopressin deficiency and pressor hypersensitivity in hemodynamically unstable organ donors. Circulation. 1999;9(100):244–6.
24. Lyons JM, Pearl JM, McLean KM, Akhter SA, Wagner BCJ, Pandalai PK et al. Glucocorticoid Administration Reduces Cardiac Dysfunction After Brain Death in Pigs. J Hear Lung Transplant. 2005;24(12):2249–54.
25. Follette DM. Improved oxygenation and increased lung donor recovery with high-dose steroid administration after brain death. jounal Hear lung Transplant. 1998;17(4):423–9.
26. Dupuis S, Amiel JA, Desgroseilliers M, Williamson DR, Thiboutot Z, Serri K, et al. Corticosteroids in the management of brain-dead potential organ donors: A systematic review. Br J Anaesth. 2014;113(3):346–59.
27. Hall, JE; Guyton A. Temperatura corporal, regulação da temperatura e febre. In: Tratado de Fisiologia Médica. 2011. p. 913–24.
28. Clar HE. Disturbances of the Hypothalamic Thermoregulation. Acta Neurochir (Wien). 1985;75:75–112.
29. Kotloff RM, Blosser S, Fulda GJ, Malinoski D, Ahya VN, Angel L, et al. Management of the Potential Organ Donor in the ICU: Society of Critical Care Medicine/American College of Chest Physicians/Association of Organ Procurement Organizations Consensus Statement. Crit Care Med. 2015;43(6):1291–325.
30. Blasi-Ibanez A, Hirose R, Feiner J, Freise C, Stock PG, Roberts JP, et al. Predictors associated with terminal renal function in deceased organ donors in the intensive care unit. Anesthesiology. 2009;110(2):333–41.
31. Sally MB, Ewing T, Crutchfield M, Patel MS, Raza S, De La Cruz S, et al. Determining optimal threshold for glucose control in organ donors after neurologic determination of death: A United Network for Organ Sharing Region 5 Donor Management Goals Workgroup prospective analysis. J Trauma Acute

Care Surg. 2014;76(1):62–9.

32. Hall, HE; Guyton A. Sistema Nervoso autônomo e medula adrenal. In: Tratado de Fisiologia Médica. 2011. p. 771–80.
33. Phadke D, Beller JP TC. The Disparate Effects of Epinephrine and Norepinephrine on Hyperglycemia in Cardiovascular Surgery. Heart Surg Forum. 2018;19(21):522–6.
34. Ferreruela M, Raurich JM, Ayestarán I L-PJ. Hyperlactatemia in ICU patients: Incidence, causes and associated mortality. J Crit Care. 2017;(42):200–5.
35. Lentsch AB, Ward PA. Regulation of inflammatory vascular damage. J Pathol. 2000;190(3):343–8.
36. Trump B. Cell injury and cell death: apoptosis, oncosis, and necrosis. Cardiovasc Toxicol 3rd ed London New York Taylor Fr 105. 2001;17:105.
37. Lee R. Fatty change and steatohepatitis. In: Diagnostic Liver Pathology. 1st ed. Mosby Inc; 1994. p. 167.

## 6. CONCLUSÕES

A estratégia otimizada de manejo clínico (infusão de cristaloide + vasopressina + levotiroxina + metilprednisolona + NA se hipotensão) permitiu maior estabilidade hemodinâmica, com pressão arterial média mais elevada e necessidade de menor volume e número de infusões de fluidos ao longo do experimento.

Houve melhor controle dos valores de sódio e glicose no grupo da estratégia otimizada, sem mudanças significativas nos valores de hemoglobina, amilase, transaminases, creatinofosfoquinase, lactato e potássio.

Os sinais de isquemia precoces foram menores no tecido renal, cardíaco e hepático dos animais submetidos ao controle otimizado. Não houve alterações isquêmicas pulmonares entre os grupos.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os assuntos referentes ao tema da morte encefálica e da manutenção do potencial doador de órgãos são de difícil estudo, uma vez que são situações de ocorrência episódica e não prevista, com distribuição em todo o território nacional, não sendo restritas, portanto, a centros de referência. Dessa forma, estudos clínicos prospectivos e randomizados são difíceis de serem realizados, tanto pelo tamanho potencial da amostra como pela dificuldade de padronização das condutas clínicas em vários ambientes diferentes. O formato do estudo experimental foi escolhido para controlar todos os fatores envolvidos nessa complexa situação, padronizar condutas e procedimentos e assim, obter um resultado livre de fatores confusionais e bastante confiável.

O trabalho testou estratégias de manejo clínico do doador de órgãos falecido e avaliou a repercussão hemodinâmica, laboratorial e histológica precoce dessa escolha. As estratégias avaliadas foram escolhidas por serem as condutas médicas mais frequentes e disponíveis na Unidade de Terapia Intensiva para manejo dos doentes graves. Além disso, optamos por mensurar dados vitais, hemodinâmicos e exames de laboratórios rotineiros, pois são esses parâmetros que estão disponíveis no momento da oferta dos órgãos e que embasam a decisão da equipe transplantadora para aceitar os órgãos para transplante. O desenho do estudo, portanto, aumenta sua validade externa.

Estudos anteriores já haviam avaliado histologicamente os enxertos por biópsias imediatamente antes do momento da captação, assim como após o transplante. Porém, os dados das fases iniciais são escassos, e apenas descrevendo a repercussão da morte encefálica nos órgãos e não os efeitos da terapia de manejo do potencial doador. Por esse motivo, foram estudadas as alterações histológicas precoces, a fim de comprovar que o início rápido das medidas de cuidado podem prevenir as lesões orgânicas.

O trabalho conseguiu comprovar que a estratégia otimizada que associa cuidados hemodinâmicos com o uso de reposição hormonal foi efetiva em manter uma melhor estabilidade hemodinâmica, com aumento da pressão arterial média, menor frequência cardíaca e menor necessidade de fluidos. Os animais também obtiveram bom controle glicêmico e eletrolítico, o que é bastante relevante nos resultados de funcionamento dos enxertos pós-transplante. Além disso, alterações

precoces na histologia foram identificadas. É importante ressaltar que essas alterações histológicas antecederam as alterações de exames laboratoriais, sinalizando para as equipes transplantadoras que doadores com exames rotineiros normais podem apresentar alterações no enxerto quando a manutenção clínica do potencial doador não foi executada.

Dessa forma, o estudo foi relevante, trazendo novos dados e contribuições que podem impactar na prática clínica à beira do leito, estimulando as equipes a prescrever a manutenção do potencial doador de forma precoce, a fim de melhorar a qualidade dos órgãos doados.

## 8. REFERÊNCIAS


1. Youn TS, Greer DM. Brain death and management of a potential organ donor in the intensive care unit. Crit Care Clin. 2014;30(4):813–31.
2. Resolução Conselho Federal de Medicina n°1480/1997 [Internet]. 1997 [cited 2015 Apr 5]. Available from: www.portalmedico.org.br/resolucoes/cfm/1997/1480_1997.htm
3. Decreto n°9175 de 18 de outubro de 2017 [Internet]. Brasil; Available from: www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2017/decreto-9175-18-outubro-2017-785591-publicacaooriginal-153999-pe.html
4. Resolução Conselho Federal de Medicina n°2173/2017 [Internet]. 2017 [cited 2018 Sep 27]. Available from: https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2017/2173
5. Central Estadual de Transplantes do Paraná [Internet]. 2019 [cited 2018 Sep 27]. Available from: www.saude.pr.gov.br
6. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, Zaclikevis VR, Bartz MCM, Wanzuita R et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido. Parte I. Aspectos gerais e suporte hemodinâmico. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(3):1–14.
7. Ranasinghe AM, Bonser RS. Endocrine changes in brain death and transplantation. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25(5):799–812.
8. Da Silva IRF, Frontera JA. Worldwide barriers to organ donation. JAMA Neurol. 2015;72(1):112–8.
9. Meyfroidt G, Gunst J, Martin-Loeches I, Smith M, Robba C, Taccone FS, et al. Management of the brain-dead donor in the ICU: general and specific therapy to improve transplantable organ quality. Intensive Care Med. 2019;45(3):343–53.
10. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, Zaclikevis VR, Bartz MCM, Wanzuita R et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido: parte II. Ventilação mecânica, controle endócrino metabólico e aspectos hematológicos e infecciosos. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(47):269–82.
11. Transplantes RB De. Rbt (2011-2018) [Internet]. São Paulo; 2018. Available

from: www.abto.org.br

12. Malinoski DJ, Daly MC, Patel MS, Oley-Graybill C, Foster CE, Salim A. Achieving donor management goals before deceased donor procurement is associated with more organs transplanted per donor. J Trauma - Inj Infect Crit Care. 2011;71(4):990–5.
13. Azarpira N, Nikeghbalian S, Kazemi K, Geramizadeh B, Malekpour Z, Malek-Hosseini SA. Association of increased plasma interleukin-6 and TNF-α levels in donors with the complication rates in liver transplant recipients. Int J Organ Transplant Med. 2013;4(1):9–14.
14. Bugge JF. Brain death and its implications for management of the potential organ donor. Acta Anaesthesiol Scand. 2009;53(10):1239–50.
15. Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. Acta Anaesthesiol Scand. 2009;53(4):425–35.
16. Sebening C, Hagl C, Szabo G, Tochtermann U, Strobel G, Schnabel P, et al. Cardiocirculatory effects of acutely increased intracranial pressure and subsequent brain death. Eur J Cardio-thoracic Surg. 1995;9(7):360–72.
17. Mertes PM, el Abassi K, Jaboin Y, Burtin P, Pinelli G, Carteaux JP, Burlet C, Boulange M VJ. Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig. Transplantation. 1994;58(4):414–8.
18. Szabó G, Sebening C, Hagl C, Tochtermann U, Vahl CF, Hagl S. Right ventricular function after brain death: Response to an increased afterload. Eur J Cardio-thoracic Surg. 1998;13(4):449–59.
19. Szabó G, Sebening C, Hackert T, Hagl C, Tochtermann U, Vahl CF HS. Effects of brain death on myocardial function and ischemic tolerance of potential donor hearts. J Hear Lung Transpl. 1998;17(9):921–30.
20. Szabó G, Sebening C, Hackert T, Hoffmann L, Sonnenberg K, Hagl C, Tochtermann U, Vahl CF HS. Influence of brain death and cardiac preservation on systolic and diastolic function and coronary circulation in the cross-circulated canine heart. World J Surg. 1999;23(1):36–43.
21. Szabó G, Hackert T, Sebening C, Vahl CF, Hagl S. Modulation of coronary perfusion pressure can reverse cardiac dysfunction after brain death. Ann Thorac Surg. 1999;67(1):18–25.
22. Szabo G, Buhmann V, Vahl CF, Sebening C HS. Endothelial function after brain death. J Hear Lung Transpl. 2001;20(2):153.

23. Szabó G, Hackert T, Buhmann V, Graf A, Sebening C, Vahl CF, et al. Downregulation of myocardial contractility via intact ventriculo-arterial coupling in the brain dead organ donor. Eur J Cardio-thoracic Surg. 2001;20(1):170–6.
24. Szabo G, Buhmann V, Bahrle S, Vahl CF HS. Brain death impairs coronary endothelial function. Transplantation. 2002;73(11):1846–8.
25. Murugan R, Venkataraman R, Wahed AS, Elder M, Carter M, Madden NJ, et al. Preload responsiveness is associated with increased interleukin-6 and lower organ yield from brain-dead donors*. Crit Care Med. 2009;37(8):2387–93.
26. Weiss S, Kotsch K, Francuski M, Reutzel-Selke A, Mantouvalou L, Klemz R, et al. Brain death activates donor organs and is associated with a worse I/R injury after liver transplantation. Am J Transplant. 2007;7(6):1584–93.
27. Gatti S, Colombo G, Turcatti F, Lonati C, Sordi A, Bonino F, et al. Reduced expression of the melanocortin-1 receptor in human liver during brain death. Neuroimmunomodulation. 2006;13(1):51–5.
28. Jassem W, Koo DDH, Cerundolo L, Rela M, Heaton ND, Fuggle S V. Leukocyte infiltration and inflammatory antigen expression in cadaveric and living-donor livers before transplant. Transplantation. 2003;75(12):2001–7.
29. Kim YS, Lim CS, Kim S, Lee JS, Lee S, Kim ST et al. Cadaveric renal allograft at the time of implantation has the similar immunological features with the rejecting allograft. Transplantation. 2000;70(7):1080–5.
30. Schwarz C, Regele H, Steininger R, Hansmann C, Mayer G OR. The contribution of adhesion molecule expression in donor kidney biopsies to early allograft dysfunction. Transplantation. 2001;71(11):1666–70.
31. Kaminska D, Tyran B, Mazanowska O, Rabczynski J, Szyber P, Patrzalek D, et al. Cytokine gene expression in kidney allograft biopsies after donor brain death and ischemia-reperfusion injury using in situ reverse-transcription polymerase chain reaction analysis. Transplantation. 2007;84(9):1118–24.
32. Araki M, Fahmy N, Zhou L, Kumon H, Krishnamurthi V, Goldfarb D, et al. Expression of IL-8 during reperfusion of renal allografts is dependent on ischemic time. Transplantation. 2006;81(5):783–8.
33. Plenz G, Eschert H, Erren M, Wichter T, Böhm M, Flesch M, et al. The interleukin-6/interleukin-6-receptor system is activated in donor hearts. J Am Coll Cardiol. 2002;39(9):1508–12.
34. Stoica SC, Atkinson C, Satchithananda DK, Charman S, Goddard M,

Redington AN, et al. Endothelial activation in the transplanted human heart from organ retrieval to 3 months after transplantation: An observational study. J Hear Lung Transplant. 2005;24(5):593–601.

35. Birks EJ, Burton PB, Owen V, Mullen AJ, Hunt D, Banner NR et al. Elevated tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in myocardium and serum of malfunctioning donor hearts. Circulation. 2000;2(19):III352-8.
36. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Burdick MD, Strieter RM, Dark JH, et al. Enhanced pulmonary inflammation in organ donors following fatal non-traumatic brain injury. Lancet. 1999;353(9162):1412–3.
37. Fisher AJ, Donnelly SC, Pritchard G, Dark JH, Corris PA. Objective assessment of criteria for selection of donor lungs suitable for transplantation. Thorax. 2004;59(5):434–7.
38. Smith M. Physiologic changes during brain stem death - Lessons for management of the organ donor. J Hear Lung Transplant. 2004;23(9 Suppl.):217–22.
39. Chen EP, Bittner HB, Kendall SWH, Van Trigt P. Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death. Crit Care Med. 1996;24(8):1352–9.
40. Domínguez-Roldán JM, García-Alfaro C, Jimenéz-González PI, Hernández-Hazañas F, Gascón Castillo ML, Egea Guerrero JJ. Muerte encefálica: repercusión sobre órganos y tejidos. Med Intensiva. 2009;33(9):434–41.
41. Dimopoulou I, Tsagarakis S, Anthi A, Milou E, Ilias I, Stavrakaki K, et al. High prevalence of decreased cortisol reserve in brain-dead potential organ donors. Crit Care Med. 2003;31(4):1113–7.
42. Howlett TA, Keogh AM, Perry L, Touzel R, Rees LH. Anterior and posterior pituitary function in brain-stem-dead donors. A possible role for hormonal replacement therapy. Transplantation [Internet]. 1989 May;47(5):828–34. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2718243
43. Powner DJ. Hormonal changes in brain dead patients. Crit Care Med. 1990;18(7):702–8.
44. Lopau K. Hormonal changes in brain death and immune activation in the donor. Transpl Int. 2000;13(1):282–5.
45. Blasi-Ibanez A, Hirose R, Feiner J, Freise C, Stock PG, Roberts JP, et al. Predictors associated with terminal renal function in deceased organ donors in

the intensive care unit. Anesthesiology. 2009;110(2):333–41.

46. Roelsgaard K, Botker HE, Stodkilde-Jorgensen H, Andrea- sen F, Jensen SL KS. Effects of brain death and glucose infusion on hepatic glycogen and blood hormones in the pig. Hepatology. 1996;24(4):871–5.
47. Floerchinger B, Oberhuber R, Tullius SG. Effects of brain death on organ quality and transplant outcome. Transplant Rev. 2012;26(2):54–9.
48. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, Zaclikevis VR, Bartz MCM, Wanzuita R et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido: Parte III. Recomendações órgãos específicas. Rev Bras Ter Intensiva. 2011;23(4):410–25.
49. Youn TS, Greer DM. Brain Death and Management of a Potential Organ Donor in the Intensive Care Unit. Crit Care Clin. 2014;30(4):813–31.
50. Kotloff RM, Blosser S, Fulda GJ, Malinoski D, Ahya VN, Angel L, et al. Management of the Potential Organ Donor in the ICU: Society of Critical Care Medicine/American College of Chest Physicians/Association of Organ Procurement Organizations Consensus Statement. Crit Care Med. 2015;43(6):1291–325.
51. Al-Khafaji A, Elder M, Lebovitz DJ, Murugan R, Souter M, Stuart S, et al. Protocolized fluid therapy in brain-dead donors: the multicenter randomized MOnIToR trial. Intensive Care Med. 2015;41(3):418–26.
52. Schnuelle P, Gottmann U, Hoeger S, Boesebeck D, Lauchart W, Weiss C, et al. Effects of Donor Pretreatment With Dopamine on Graft Function After Kidney Transplantation. Jama. 2009;302(10):1067.
53. Stoica SC, Satchithananda DK, White PA, Parameshwar J, Redington AN LS. Noradrenaline use in the human donor and relationship with load-independent right ventricular contractility. Transplantation. 2004;78(8):1193–7.
54. Birtan D, Arslantas MK, Altun GT, Dincer PC, Gecegormez S, Demirel A, et al. Effect of Vasoactive Therapy Used for Brain-Dead Donors on Graft Survival After Kidney Transplantation. Transplant Proc. 2018;50(5):1289–91.
55. Miñambres E, Ballesteros MA, Rodrigo E, García-Miguélez A, Llorca J, Ruiz JC, et al. Aggressive lung donor management increases graft procurement without increasing renal graft loss after transplantation. Clin Transplant. 2013;27(1):52–9.
56. Chen JM, Cullinane S, Spanier TB, Artrip JH, John R, Edwards NM, Oz MC

LD. Vasopressin deficiency and pressor hypersensitivity in hemodynamically unstable organ donors. Circulation. 1999;9(100):244–6.

57. Mascia L, Pasero D, Slutsky AS, Arguis MJ, Berardino M, Grasso S, et al. Effect of a Lung Protective Strategy for Organ Donors on Eligibility and Availability of Lungs for Transplantation. JAMA. 2010;304(23):2620–7.
58. Callahan DS, Neville A, Bricker S, Kim D, Putnam B, Bongard F, et al. The effect of arginine vasopressin on organ donor procurement and lung function. J Surg Res. 2014;186(1):452–7.
59. Novitzky D. Hemodynamic and metabolic responses to hormonal therapy in brain-dead potential organ donors. Transplantation. 1987;43(6):852–4.
60. Novitzky D. Improved cardiac function following hormonal therapy in brain dead pigs: relevance to organ donation. Cryobiology. 1987;24(1):1–10.
61. Novitzky D. Change from aerobic to anaerobic metabolism after brain death, and reversal following triiodothyronine therapy. Transplantation. 1988;41(1):32–6.
62. Hing AJ, Hicks M, Garlick SR, Gao L, Kesteven SH, Faddy SC, et al. The effects of hormone resuscitation on cardiac function and hemodynamics in a porcine brain-dead organ donor model. Am J Transplant. 2007;7(4):809–17.
63. Salim A, Vassiliu P, Velmahos GC, Sava J, Murray JA, Belzberg H, et al. The role of thyroid hormone administration in potential organ Donors. Arch Surg. 2001;136(12):1377–80.
64. Randell TT HK. Triiodothyronine treatment in brain-dead multiorgan donors- a controlled study. Transplantation. 1992;54(4):736–8.
65. Goarin JP, Cohen S, Riou B, Jacquens Y, Guesde R, Le Bret F, Aurengo A CP. The effects of triiodothyronine on hemodynamic status and cardiac function in potential heart donors. Anesth Analg. 1996;83(1):41–7.
66. Rosendale JD, Myron Kauffman H, McBride MA, Chabalewski FL, Zaroff JG, Garrity ER, et al. Aggressive pharmacologic donor management results in more transplanted organs. Transplantation. 2003;75(4):482–7.
67. MacDonald PS, Aneman A, Bhonagiri D, Jones D, O'Callaghan G, Silvester W, et al. A systematic review and meta-analysis of clinical trials of thyroid hormone administration to brain dead potential organ donors. Crit Care Med. 2012;40(5):1635–44.
68. Novitzky D. Thyroid hormone therapy in the management of 63,593 brain-dead

organ donors: A retrospective analysis. Transplantation. 2014;98(10):1119–27.

69. Follette DM. Improved oxygenation and increased lung donor recovery with high-dose steroid administration after brain death. jounal Hear lung Transplant. 1998;17(4):423–9.

70. Dupuis S, Amiel JA, Desgroseilliers M, Williamson DR, Thiboutot Z, Serri K, et al. Corticosteroids in the management of brain-dead potential organ donors: A systematic review. Br J Anaesth. 2014;113(3):346–59.

71. Sally MB, Ewing T, Crutchfield M, Patel MS, Raza S, De La Cruz S, et al. Determining optimal threshold for glucose control in organ donors after neurologic determination of death: A United Network for Organ Sharing Region 5 Donor Management Goals Workgroup prospective analysis. J Trauma Acute Care Surg. 2014;76(1):62–9.

# 9. MATERIAL SUPLEMENTAR

## 9.1 Anexo 1 – Parecer do CEUA (Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais)

**Pontifícia Universidade Católica do Paraná**
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

PUCPR
GRUPO MARISTA

Curitiba, 19 de abril de 2018.

**PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA**

**REGISTRO DO PROJETO:** **01153 – Relatório Parcial e liberação para utilização dos animais aprovados no projeto inicial**

**TÍTULO DO PROJETO:** *EFEITO DA PADRONIZAÇÃO DA TERAPIA DE MANUTENÇÃO SOBRE A RESPOSTA INFLAMATÓRIA SECUNDÁRIA A MORTE ENCEFÁLICA E SUAS REPERCUSÕES SOBRE O PADRÃO HISTOLÓGICO DE ORGÃOS ESPECIFÍCOS – MODELO EXPERIMENTAL EM COELHO*

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL**
LUANA ALVES TANNOUS

**EQUIPE DE PESQUISA**
Luana Alves Tannous

**INSTITUIÇÃO**
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

**CURSO**
Medicina

| | | | |
|---|---|---|---|
| **VIGÊNCIA DO PROJETO** | Outubro/2017 a Julho/2019 | **QUANTIDADE DE ANIMAIS** | 20 |
| **ESPECIE/LINHAGEM** | *Oryctolagus cuniculus* (Coelho Nova Zelândia) | **Nº SISBIO** (Somente animais de vida livre) | Não se aplica |
| **SEXO** | Macho | **ATIVIDADES** (Somente animais de vida livre) | Não se aplica |
| **IDADE / PESO** | 5 meses / 4-5 kg | **ESPECIÉ – GRUPO TAXONÔMICOS** (de vida livre) | Não se aplica |
| **ORIGEM DO ANIMAL** | FEGA | **LOCAL (IS)** (Somente animais de vida livre) | Não se aplica |

O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa cientifica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 6.899/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA e foi **APROVADO** pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado. Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar um relatório á CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por esta CEUA em qualquer tempo.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha**
**Coordenador**
**Comissão de Ética no Uso de Animais**

Comissão de Ética no Uso de Animais PUCPR

## 9.2 Anexo 2 – Artigo submetido para publicação

American Journal of Transplantation

# Histological, laboratory, and clinical benefits of an optimized maintenance strategy of a potential organ donor—a rabbit experimental model

| | |
|---|---|
| Journal: | *American Journal of Transplantation* |
| Manuscript ID | Draft |
| Wiley - Manuscript type: | O - Original Article |
| Date Submitted by the Author: | n/a |
| Complete List of Authors: | Tannous, Luana Alves; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina; Hospital Universitário Cajuru, Medicina Intensiva<br>Westphal, Glauco; State transplant Central, Santa Catarina, Brasil<br>Ioshii, Sergio; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina<br>Alves, Guilherme; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina<br>Pigatto, Raul; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina<br>Pinto, Rafael; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina<br>Carvalho, Katherine; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina<br>Francisco, Julio; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina<br>Guarita-Souza, Luiz; Pontificia Universidade Catolica do Parana Departamento de Medicina, Escola de Medicina |
| Keywords - Scope: | basic (laboratory) research / science, clinical research / practice |
| Keywords - Discipline: | organ transplantation in general, pathology / histopathology |
| Keywords - Focus: | animal models, critical care / intensive care management, donors and donation: donation after brain death (DBD), organ perfusion and preservation |
| | |

**Histological, laboratorial, and clinical benefits of an optimized maintenance strategy of a potential organ donor—a rabbit experimental model**

Luana Alves Tannous

ORCID 0000-0003-3559-1712

Affiliation: School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Glauco Adriano Westphal

ORCID 0000-0001-9581-7141

Affiliation: State transplant Central, Santa Catarina, Brazil

Sergio Ossamu Ioshii

ORCID 0000-0003-1208-2448

Affiliation: School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Guilherme Naves de Lima Alves

ORCID 0000-0002-5121-3749

Affiliation: School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Raul Nishi Pigatto

ORCID 0000-0001-8584-893X

Affiliation: School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Rafael Luiz Pinto

ORCID 0000-0002-2096-6465

Affiliation: School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Katherine Athayde Teixeira de Carvalho

ORCID 0000-0003-4860-2855

Afiliação: Pelé Pequeno Príncipe Institute, Child and Adolescent Health Research & Pequeno Príncipe Faculty.

Júlio Cesar Francisco

ORCID 0000-0003-1970-6399

Affiliation: Positivo School of Medicine, Curitiba, Paraná, Brazil

Luiz César Guarita-Souza

ORCID 0000-0003-2781-9705

Affiliation: School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Corresponding author e-mail: luanatannous@yahoo.com.br

Abbreviations

| | |
|---|---|
| BD | brain death |
| CPK | creatin phosphokinase |
| $FIO_2$ | fraction of inspired oxygen |
| HR | heart rate |
| HB | hemoglobin |
| MAP | mean arterial pressure |
| NA | noradrenaline |

PD potential organ donor

PEEP positive end-expiratory pressure

Sat $O_2$ oxygen saturation

TGO glutamic–oxaloacetic transaminase

TGP glutamate–pyruvate transaminase

Abstract

Introduction: The majority of transplanted organs are obtained from brain-dead (BD) donors. Sympathetic discharge and inflammation result in pre-transplant organ dysfunction and a higher rate of rejection. Objectives: In this study, we evaluated the clinical, laboratorial and histological repercussion of three different hemodynamic control strategies of the potencial organ donor in the early stage after BD induction in an experimental model. Methods: Twenty rabbits were divided into the following four groups: A (control), B (induction of BD + infusion of crystalloid if hypotension), C (BD + infusion of crystalloid and noradrenaline (NA) if hypotension), and D (BD + infusion of crystalloid + vasopressin + levothyroxine + methylprednisolone + NA if hypotension). The animals were monitored for four hours with consecutives analysis of mean arterial pressure (MAP), temperature, heart rate (HR) and oxygen saturation (Sat $O_2$). In the beginning and in the end of the experiment serum lactate, hemoglobin (HB), transaminases**,** amylase, creatin phosphokinase (CPK), sodium, potassium and glucosis were analysed. Heart, lungs, liver and kidneys were evaluated blindely by a Pathologist. Results: In Group D (optimized Strategy), we observed fewer number ($p = 0.032$) and less volume of fluid infusions ($p = 0.014$) comparing with groups B and C. MAP levels were higher in group D in comparison with group B ($p = 0.008$). Group D had better glycemic control comparing with group C ($p = 0.016$). There was an increase in sodium values in group B in relation to groups C and D ($p = 0.021$). In Group D, the average size of renal tubular cells and cardiac vessel was smaller and the degree of steatosis was lower. Conclusion: The optimized strategy of clinical management of BD animals (Group D) is associated

with better hemodynamic, glycemic and natremia control, besides reducing early signs of ischemia of the heart, kidneys, and liver.

## 1 INTRODUCTION

Brain death (BD) is defined as complete and irreversible damage of brain functions, characterized by apperceptive coma, absence of brainstem reflexes, and apnea.[1] In the context of transplantation, the identification of BD is of extreme importance because 73%–80% of the organs are obtained from BD donors. [2]

The succession of pathophysiological phenomena in organ donors might involve BD in the pre-transplant period, decreasing the success rate of transplantation.[3] It involves a cascade of events that follows herniation and cerebral ischemia, composed of loss of central neuro–hormonal regulatory control, hypothalamic–pituitary dysfunction, and transient increase in sympathetic activity record, resulting in the hypoxia of tissues, amplification of inflammatory response, and dysfunction of organs and tissues intended for transplant. [4,5] In addition to the increase in cytokines, deficiency of vasopressin, thyroid hormones and cortisol contributes to increased inflammatory response. [3,6–8] Thus, the hemodynamic instability resulting from the lack of multiple hormones and pro-inflammatory activity could explain the worse prognosis of patients receiving the heart, lungs, liver, and kidneys from BD donors than that of recipients receiving organs from live patients. [7,9]

There is a significant disparity between the number of patients requiring organ transplantation and the availability of organs for donation. [10] The annual number of transplants is only 10% of the global need [11], and the low supply of organs is associated with underreporting of BD, lack of family consent and failure in the clinical management of potential organ donors (PDs). [12,13] The failure of a standard maintenance practice is associated with the loss of PDs due to cardiac arrest and decrease in quality of the organs to be transplanted. [14]

The standardization of some established physiological targets can result in a greater number of organs transplanted per donor, better graft function, and less loss of PD due to hemodynamic instability.[2,4,15] Since de beginning of the autonomic storm, it is suggest to treat the hemodynamic instablity, infections, prevention of *diabetes insipidus* and glucose level control. [1,15,16] In addition, the benefits of

protective mechanical ventilation, volume expansion, and vasopressin, thyroid hormone, and corticosteroid replacements have been demonstrated [8,17–19].

The purpose of this study was to evaluate the clinical, laboratory, and histological benefits of an optimized hemodynamic support after the induction of BD in an animal model.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Animals

Twenty male New Zealand rabbits weighing between 3.0 and 4.0 kg and aged between 4 and 5 months were included in the experiment. All procedures were carried out in accordance with the ethical principles for animal experimentation (11,794 Law of 08/10/2008) and after approval by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA-project registry-01153).

The rabbits were transferred overland to the lab where operative technique and experimental surgery were performed, approximately 12 h before the start of the test. The rabbits were retained in their individual cages and maintained at a night/day cycle of 12 h, in an environment with noise control, at temperature of 22° C and humidity of 60%. The rabbits were fed a standard diet and provided water *ad libitum* until 12 h before anesthesia. During the experiment, the rabbits were handled carefully to avoid an increase in physical activity or metabolic stress.

### 2.2 Treatments

The 20 animals were randomly divided into the following four groups of five rabbits each:

- Group A (control) - anesthesia + oro–tracheal intubation/ventilation + craniotomy + bolus infusion of 0.9% sodium chloride in case of hypotension, without exceeding 40 mL/Kg;
- Group B (BD and volume replacement) - anaesthesia + oro–tracheal intubation/ventilation + craniotomy + BD + bolus infusion of 0.9% sodium chloride in case of hypotension, without exceeding 40 mL/Kg;
- Group C (BD and basic strategy) - anaesthesia + oro–tracheal intubation/ventilation + craniotomy + BD + bolus infusion of 0.9% sodium

chloride in case of hypotension, without exceeding 40 mL/kg + NA 0.05–2 mcg/kg/min in case of hemodynamic instability;

- Group D (BD and optimized strategy) - anesthesia + oro–tracheal intubation/ventilation + craniotomy + BD + induction of hemodynamic support optimized with bolus infusion of 0.9% sodium chloride without exceeding 40 mL/kg + continuous infusion of 0.04 U/h vasopressin + 15 mg/kg methylprednisolone + 4 mg/kg levothyroxine + 0.05–2 mcg/kg/min NA in case of hemodynamic instability.

**2.3 Anesthesia and induction of brain death**

Anesthesia was induced with ketamine 35 mg/kg and 5 mg/kg xylazine, followed by oro–tracheal intubation with video–laryngoscope and mechanical ventilation. [20] Analgesia with intravenous dipyrone was held beyond the duration of local anesthesia with lidocaine. All the rabbits were ventilated under controlled pressure, peak inspiratory pressure of 20 cm $H_2O$, fraction of inspired oxygen ($FIO_2$) of 100%, respiratory frequency of 50 cycles/min, and positive end-expiratory pressure (PEEP) of 8 cm$H_20$.

Two peripheral veins in the lower limbs were cannulated and the auricular artery was punctured for continuous monitoring of blood pressure.

All the rabbits were subjected to trepanation surgery. Brain death was induced in Groups B, C, and D, with the insertion of a catheter Fogarty® 4 F (Edwards Lifescience LLC, Irvine, CA, USA) through the hole of craniotomy. Brain death was induced by rapid inflation of the catheter with 3 mL of air, and it was confirmed by observation of hypertensive peak, absence of corneal reflex, and bilateral fixed mydriasis. [21]

After the induction of BD, anesthesia was suspended in Groups B, C, and D. Group A rabbits received extra doses of anesthetics and analgesics throughout the time of evaluation.

To avoid hypothermia, the rabbits were heated with a thermal mattress and via hot compresses on the paws and ears. All the rabbits received infusions of medications according to the corresponding dose for each group.

The rabbits were kept under clinical observation, to monitor the mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), oxygen saturation (Sat $O_2$), and rectal temperature for 4 h. After this period, euthanasia was performed with anesthetic overdose

(intravenous sodium thiopental, at a dose of 150 mg/kg). The organs were removed and stored in formalin for the subsequent histological analyses.

**2.4 Laboratory and histological analyses**

Blood samples were collected for laboratory analysis at the time of anesthetic induction and at the end of the experiment, with four hours of observation. Lactate, creatin phosphokinase (CPK), potassium, sodium, glucose, hemoglobin levels, glutamic–oxaloacetic transaminase (TGO), glutamate-pyruvate transaminase (TGP) and amylase were analysed. The laboratory analysis was performed by a veterinary diagnostic center (Bionostic, Curitiba-PR, Brazil).

At the end of the experiment, the organs were removed, photographed, and stored in flasks with formaldehyde 10%. Histological sections of the liver, kidneys, heart, and lungs were prepared by hematoxylin–eosin staining and scanned with Axio Scan Z1 (Zeiss, Oberkochen, Germany). The slide examination was performed blindly by a pathologist. In the kidneys, we evaluated the glomerular space and size, and cell size. In the heart, the space between the muscle fibers and the average size of the vessels were evaluated. In the liver, we measured the degree of steatosis and average size of hepatic sinusoid. In the lungs, the red blood cell count and the relationship between erythrocyte count and alveolar space were measured. Ten fields in each slide were evaluated to obtain the average of the variables per animal. Scanning of the slides and histopathological evaluations were conducted using ZEN Blue Edition Software (Zeiss, Oberkochen, Germany) and Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Maryland, USA). Different color masks were applied on each slide to identify the desired variable and its area was calculated in $\mu^2$. The renal cell size was measured linearly and the mean renal tubular size was measured at the smallest diameter.

**2.5 Statistical analysis**

The results of the analysis of vital data and laboratory tests are described in line graphs and averages, histological variables, and representative average charts with a confidence interval of 95%. For comparisons between groups, one way analysis of variance was used with pos hoc Scheffe test for variables that presented normality and homogeneity of variances. The parameters that did not meet these criteria were analyzed by Kruskal–Wallis non-parametric test. Statistical analysis was

performed using IBM SPSS Statistics software version 22.0 and the significance level was fixed at 5% ($p < 0.05$).

## 3 RESULTS

A rabbit from Group B suffered cardiac arrest due to hemodynamic instability at 3 h of observation and the corresponding data were excluded from the analysis.

The analysis of vital data showed that the body temperature of the rabbits from the three groups subjected to BD (B, C, and D) was significantly higher than that of Group A ($p = 0.021$; Figure 1A). There was no significant difference in the HR and Sat $O_2$ between the groups (Figure 1B, C).

In Group D, the MAP was higher than that of the other groups ($p = 0.021$), and the rabbits of this group did not require the infusion of NA for hemodynamic control (Figure 1 d). Fewer fluid infusions were required with less volume for hemodynamic control in Group D. Group B required three times more fluids ($p = 0.006$) and 3.4 times more infusions that those for Group A ($p = 0.007$). Whereas in Group C, the amount of infusion was 2.3 times higher ($p = 0.042$) and the number of infusions was 3.6 times higher ($p = 0.004$) than those for Group A. Group D received 2.2 times more infusions than that of Group A ($p = 0.108$) and 1.6 times more fluids than those for Group A ($p = 0.273$).

The laboratory tests revealed an increase in the average level of sodium at points 0 and 3 in Group B ($p = 0.028$). There was also an increase in glucose level variation between those points in Group C compared with that in the other groups ($p = 0.026$). The lactate, potassium, hemoglobin levels, TGO, TGP, CPK and amylase showed no differences between the groups (Figure 2).

There was no difference in the histological analysis of the kidneys, heart, and liver (Figure 3). There was a significant difference in the average size of renal tubular cells between the four groups ($p = 0.001$). The renal tubular cell size of Group D was less than that of Groups B and C ($p = 0.003$ and $p < 0.001$, respectively). However, there was no difference in the renal tubular cell size of Group D in relation to that of Group A ($p = 0.088$). The average size of renal tubular cells of Group C was higher than that of group A ($p = 0.004$). In relation to the average size of the heart vessels, there was no difference between the four groups ($p = 0.022$). Group A presented smaller average size in relation to that of Groups B ($p = 0.003$) and C ($p = 0.036$),

whereas groups A and D presented a similar average size (p = 0.106). With respect to average hepatic steatosis, there were differences between the four groups (p = 0.017). Although in the paired analysis, there was no significant difference between Groups B, C, and D, we observed that Group D presented the lowest average steatosis among them (562.6 $\mu m^2$), being the closest to the group average (208.0 $\mu m^2$). Figures 4, 5, and 6 illustrate the histological changes observed. There were no differences in the other histological parameters analyzed.

## 4 DISCUSSION

In usual clinical practice, BD patients are validated as potential donors based on the medical history, vital data over time, and laboratory tests that can demonstrate target organ damage. [22] In the present study, we assessed three different potential therapeutic donor care strategies (groups B, C, and D), commonly used in clinical practice, and verified the effect on parameters routinely used for the acceptance of an organ, which reflects the external validity.

In relation to the vital data, all the groups with induced BD presented a peak in BP soon after the procedure. This phenomenon is well known and is due to the increased level of norepinephrine, epinephrine, and dopamine immediately after BD, increasing the MAP transiently. [4,8,9,21] After this period, the rabbits developed hypotension, which was treated per the protocol of each group. Group B, which did not receive any vasopressor, exhibited progressive hemodynamic deterioration, culminating in cardiac arrest in one of the rabbits. The rabbits from Group D were hemodynamically stable over time compared with that of rabbits in Group C, as they presented a high MAP (Figure 1D), reduced need for fluids, and few number interventions to maintain stability. The HR of this group was relatively low (Figure 1B), indicating that these rabbits remained more hemodynamically compensated. These findings can be explained by the rapid depletion of vasopressin level, in addition to depleting cortisol and thyroid hormone levels. [8,19,23] However, in Group D, the replacement of vasopressin, corticosteroid, and thyroid hormones, although controversial [14], seems to have facilitated the hemodynamic control. [4,9,24] Although we did not observe a significant difference, the data showed that the Sat $O^2$ of Group D was superior to that of Groups B and C (Figure 1C), a condition that can be explained by better perfusion and reduced need for volume infusion, avoiding

congestion and improving gas exchange. [4] In addition, there are prior reports of corticosteroid usage to improve oxygenation in potential lung donors [25] although the current evidence does not support this use. [26] The temperature increase observed in Groups B, C, and D (Figure 1A) was probably caused by the lesion-induced loss of brain self regulation. [27,28] In most cases, hypothermia has been observed, but as in this study, there was active heating of animals in order to prevent arrhythmia and hemodynamic decontrol [1,14,29], hyperthermia has been reported. The control group, with preserved brain self regulation, maintained the temperature stable despite the external heating. The hypernatremia post BD can be explained by the following mechanisms: depletion of vasopressin, induction of diabetes insipidus and dehydration, and the use of hyperosmolar solutions. [8,15] This finding was consistent with the findings of the present study in Groups B and C (figure 2A). Group D, that received vasopressin in the treatment, did not present hypernatremia, which contributed to increased hemodynamic stability among the rabbits of the group, as described previously. [23] With respect to the pathophysiology of BD, there was a reduction in the level of insulin, which corresponded with the critically ill patient condition, predisposing to hyperglycemia. [4,30] There are reports of association between blood sugar control and the increase in the number of donated organs, in addition to the improvement of quality of renal grafts. [30,31] Regarding the changes in the blood glucose level, there was no significant data except in Group C (Figure 2B). These animals received NA, which can cause hyperglycemia. [32],[33] Hyperglycemia was not observed in Group D, in which vasopressin was used as a vasopressor of choice. Although the data did not demonstrate statistical significance, the lactate level showed a tendency to increase in Group B compared with that in the other groups (Figure 2C). The change was expected, because these animals did not receive vasopressor treatment and developed more severe hypotension (Figure 1 d). [34]

The histological parameters evaluated demonstrated hypoperfusion and early ischemia. [35–37] When we evaluated the average tubular cell size, average cardiac vessel size and hepatic average steatosis, Group D was the closest to Group A among the intervention groups, generating statistical significance. This finding is consistent with the better clinical stability of animals of this group, with repercussions on perfusion and inflammation of the kidneys, liver, and heart.

The fact that histological changes can be detected without significant change in laboratory tests commonly used for validation of organs for transplant is quite relevant. This fact suggests that the biochemical changes are late markers of tissue injury.

In the present study, we focused on changes in the early hours after BD and therefore some results did not show differences between the groups. Further studies with extended observation time can provide significant insights into additional parameters. Our data demonstrated that the optimized strategy of clinical management (infusion of crystalloid + vasopressin + levothyroxine + methylprednisolone + NA if hypotension) increased hemodynamic stability, improved the control of sodium and glucose levels, and decreased acute isquemic signs in the heart, kidneys, and liver.

**ACKNOWLEDGMENTS**

We thank the staff at the Laboratory of Operative Technique of PUC PR and the Veterinary Laboratory Bionostic.

**Disclosure**

The authors of this manuscript have no conflicts of interest to disclose as described by the *American Journal of Transplantation*.

**Figure legends**

Figure 1 – Evaluation of the vital data over time – comparison between groups. (A) Temperature, (B) HR, (C) Sat $O_2$, and (D) MAP.

Figure 2 - Variation in the laboratory data between the beginning and the end of the experiment. Point 0 – anesthetic induction. Point 3 – end of experiment (four hours of observation). (A) and (B) Dextrose, (C) and (D) CPK, (E) TGO, (F) amylase, (G) potassium, (H) TGP, and (I) hemoglobin.

Figure 3 – Comparison of histological data between the groups. In abscissa, the groups studied, with the results expressed by the mean (center point) and their 95%

confidence interval. (A) The average size of renal tubular cells, (B) average size of the heart vessels, and (C) average steatosis.

Figure 4 - Renal tissue. A) Control group containing glomerulus and normal tubular cells; B) Group without use of vasopressors, containing larger tubular cells, with greater degree of edema; C) Group receiving only norepinephrine, with cell enlargement and tubular cell edema (arrow), similar to group B; D) Group that received the optimized strategy, in which the morphometric parameters were similar to the control group. Hematoxylin and eosin (Original magnification, 200x).

Figure 5 – Heart tissue. A) Myocardial tissue of the control group, within the parameters of normality; B) Myocardium of the group without use of vasopressors with increased capillary congestion; C) Myocardium of the group with norepinephrine use containing capillaries with coagulation (arrow) similar to group B; D) Myocardium of the optimized strategy group containing capillaries with characteristics similar to those observed in the control group. Hematoxylin and eosin (Original magnification, 200x).

Figure 6 - Liver tissue. A) Control group with hepatocytes with no evidence of steatosis. B) Hepatic tissue of the group without use of vasopressors with microgoticularl steatosis; C) Group with norepinephrine use, with statistically similar degree of steatosis to the group without use of vasopressors (arrow); D) Group with optimized strategy in which the degree of steatosis was minimal, close to that observed in the control group. Hematoxylin and eosin (Original magnification, 200x).

**REFERENCES**

1. Youn TS, Greer DM. Brain Death and Management of a Potential Organ Donor in the Intensive Care Unit. *Crit Care Clin*. 2014;30(4):813-831.
2. Malinoski DJ, Daly MC, Patel MS, Oley-Graybill C, Foster CE, Salim A. Achieving donor management goals before deceased donor procurement is associated with more organs transplanted per donor. *J Trauma - Inj Infect Crit Care*. 2011;71(4):990-995.
3. Azarpira N, Nikeghbalian S, Kazemi K, Geramizadeh B, Malekpour Z, Malek-Hosseini SA. Association of increased plasma interleukin-6 and TNF-α levels in

donors with the complication rates in liver transplant recipients. *Int J Organ Transplant Med*. 2013;4(1):9-14.

4. Bugge JF. Brain death and its implications for management of the potential organ donor. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2009;53(10):1239-1250.
5. Da Silva IRF, Frontera JA. Worldwide barriers to organ donation. *JAMA Neurol*. 2015;72(1):112-118.
6. Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2009;53(4):425-435.
7. Domínguez-Roldán JM, García-Alfaro C, Jimenéz-González PI, Hernández-Hazañas F, Gascón Castillo ML, Egea Guerrero JJ. Muerte encefálica: repercusión sobre órganos y tejidos. *Med Intensiva*. 2009;33(9):434-441.
8. Chen EP, Bittner HB, Kendall SWH, Van Trigt P. Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death. *Crit Care Med*. 1996;24(8):1352-1359.
9. Floerchinger B, Oberhuber R, Tullius SG. Effects of brain death on organ quality and transplant outcome. *Transplant Rev*. 2012;26(2):54-59.
10. McKeown DW, Bonser RS, Kellum JA. Management of the heartbeating brain-dead organ donor. *Br J Anaesth*. 2012;108(SUPPL. 1):96-107.
11. Matesanz R, Domínguez-Gil B, Coll E, Mahíllo B, Marazuela R. How Spain Reached 40 Deceased Organ Donors per Million Population. *Am J Transplant*. 2017;17(6):1447-1454.
12. Westphal G, Filho M, Vieira K, et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido. Parte I. Aspectos gerais e suporte hemodinâmico. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2011;23(3):1-14.
13. Ranasinghe AM, Bonser RS. Endocrine changes in brain death and transplantation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(5):799-812.
14. Meyfroidt G, Gunst J, Martin-Loeches I, et al. Management of the brain-dead donor in the ICU: general and specific therapy to improve transplantable organ quality. *Intensive Care Med*. 2019. doi:10.1007/s00134-019-05551-y
15. Glauco Adrieno W, Milton CF, Kalinca Daberkow V, et al. Diretrizes para manutenção de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido: parte II. Ventilação mecânica, controle endócrino metabólico e aspectos hematológicos e infecciosos. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2011;23(47):269-282.
16. Westphal GA, Caldeira Filho M, Vieira KD, et al. Diretrizes para manutenção

de múltiplos órgãos no potencial doador adulto falecido: Parte III. Recomendações órgãos específicas. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2011;23(4):410-425.

17. Mascia L, Pasero D, Slutsky AS, et al. Effect of a Lung Protective Strategy for Organ Donors on Eligibility and Availability of Lungs for Transplantation. *JAMA*. 2010;304(23):2620.
18. Murugan R, Venkataraman R, Wahed AS, et al. Preload responsiveness is associated with increased interleukin-6 and lower organ yield from brain-dead donors*. *Crit Care Med*. 2009;37(8):2387-2393.
19. Dimopoulou I, Tsagarakis S, Anthi A, et al. High prevalence of decreased cortisol reserve in brain-dead potential organ donors. *Crit Care Med*. 2003;31(4):1113-1117.
20. Fonseca, Neuber Martins; Goldenberg, Saul; Gomes, Paulo de Oliveira; Lima CA de P. Anestesia em coelhos / Anesthesia in rabbits. *Acta Cir Bras*. 1996;11(2):82-104.
21. Biswas SS, Chen EP, Bittner HB, Davis RD, Van Trigt P. Brain death further promotes ischemic reperfusion injury of the rabbit myocardium. *Ann Thorac Surg*. 1996;62(6):1808-1815.
22. Westphal GA, Garcia VD, De Souza RL, et al. Guidelines for the assessment and acceptance of potential brain-dead organ donors. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2016;28(3):220-255.
23. Chen JM, Cullinane S, Spanier TB, Artrip JH, John R, Edwards NM, Oz MC LD. Vasopressin deficiency and pressor hypersensitivity in hemodynamically unstable organ donors. *Circulation*. 1999;9(100):II244-6.
24. Jefferson M. Lyons, MD, Jeffrey M. Pearl, MD, Kelly M. McLean, MD, Shahab A. Akhter, MD B, Connie J. Wagner, BS, Prakash K. Pandalai, MD, and Jodie Y. Duffy P. Glucocorticoid Administration Reduces Cardiac Dysfunction After Brain Death in Pigs. *J Hear Lung Transplant*. 2005;24(12):2249-2254.
25. Follette DM, Rudich SM BW. Improved oxygenation and increased lung donor recovery with high-dose steroid administration after brain death. *jounal Hear lung Transplant*. 1998;17(4):423-429.
26. Dupuis S, Amiel JA, Desgroseilliers M, et al. Corticosteroids in the management of brain-dead potential organ donors: A systematic review. *Br J Anaesth*. 2014;113(3):346-359.

27. Hall, JE; Guyton A. Temperatura corporal, regulação da temperatura e febre. In: *Tratado de Fisiologia Médica*. ; 2011:913-924.
28. Clar HE. Disturbances of the Hypothalamic Thermoregulation. *Acta Neurochir (Wien)*. 1985;75:75-112.
29. Kotloff RM, Blosser S, Fulda GJ, et al. *Management of the Potential Organ Donor in the ICU: Society of Critical Care Medicine/American College of Chest Physicians/Association of Organ Procurement Organizations Consensus Statement*. Vol 43.; 2015.
30. Blasi-Ibanez A, Hirose R, Feiner J, et al. Predictors associated with terminal renal function in deceased organ donors in the intensive care unit. *Anesthesiology*. 2009;110(2):333-341.
31. Sally MB, Ewing T, Crutchfield M, et al. Determining optimal threshold for glucose control in organ donors after neurologic determination of death: A United Network for Organ Sharing Region 5 Donor Management Goals Workgroup prospective analysis. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;76(1):62-69.
32. Hall, HE; Guyton A. Sistema Nervoso autônomo e medula adrenal. In: *Tratado de Fisiologia Médica*. ; 2011:771-780.
33. Phadke D, Beller JP TC. The Disparate Effects of Epinephrine and Norepinephrine on Hyperglycemia in Cardiovascular Surgery. *Heart Surg Forum*. 2018;19(21(6)):E522-E526.
34. Ferreruela M, Raurich JM, Ayestarán I L-PJ. Hyperlactatemia in ICU patients: Incidence, causes and associated mortality. *J Crit Care*. 2017;42:200-205.
35. Lentsch AB, Ward PA. Regulation of inflammatory vascular damage. *J Pathol*. 2000;190(3):343-348.
36. Trump B. Cell injury and cell death: apoptosis, oncosis, and necrosis. *Cardiovasc Toxicol 3rd ed London New York Taylor Fr 105*. 2001;17:105.
37. Lee R. Fatty change and steatohepatitis. In: *Diagnostic Liver Pathology*. 1st ed. Mosby Inc; 1994:167.

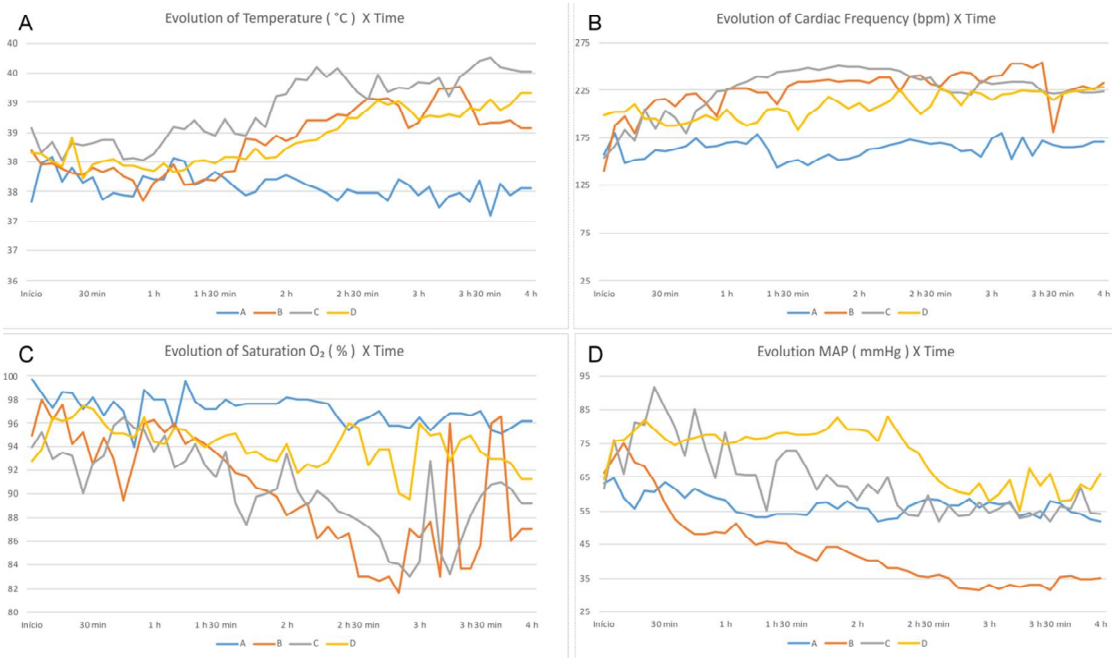


Figure 1

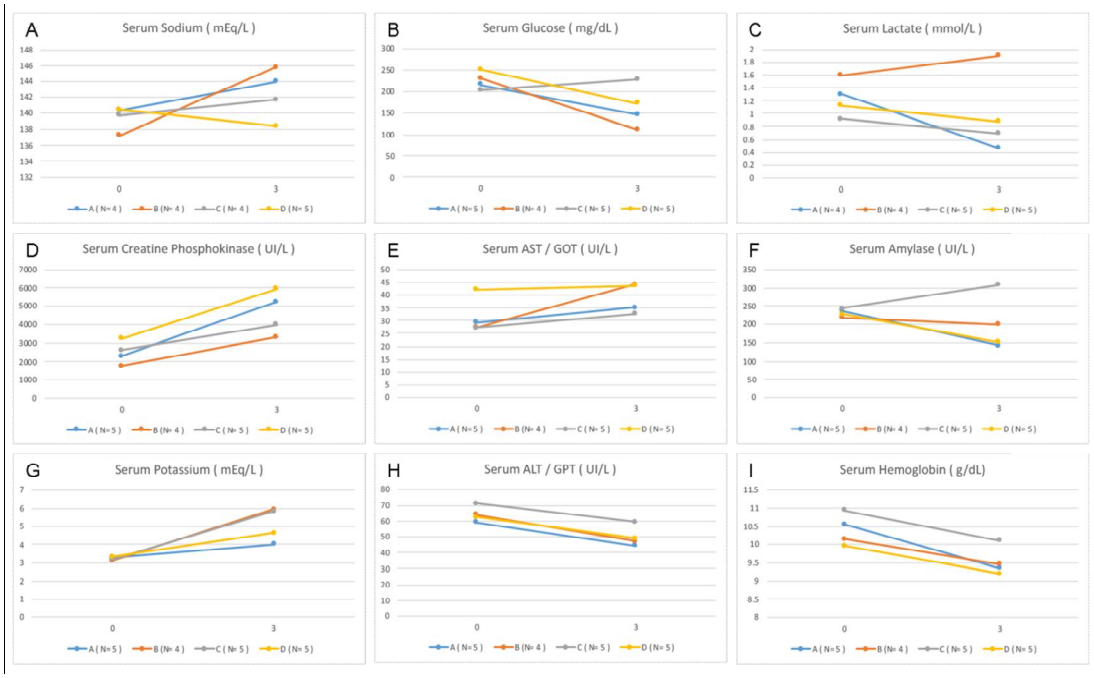


Figure 2

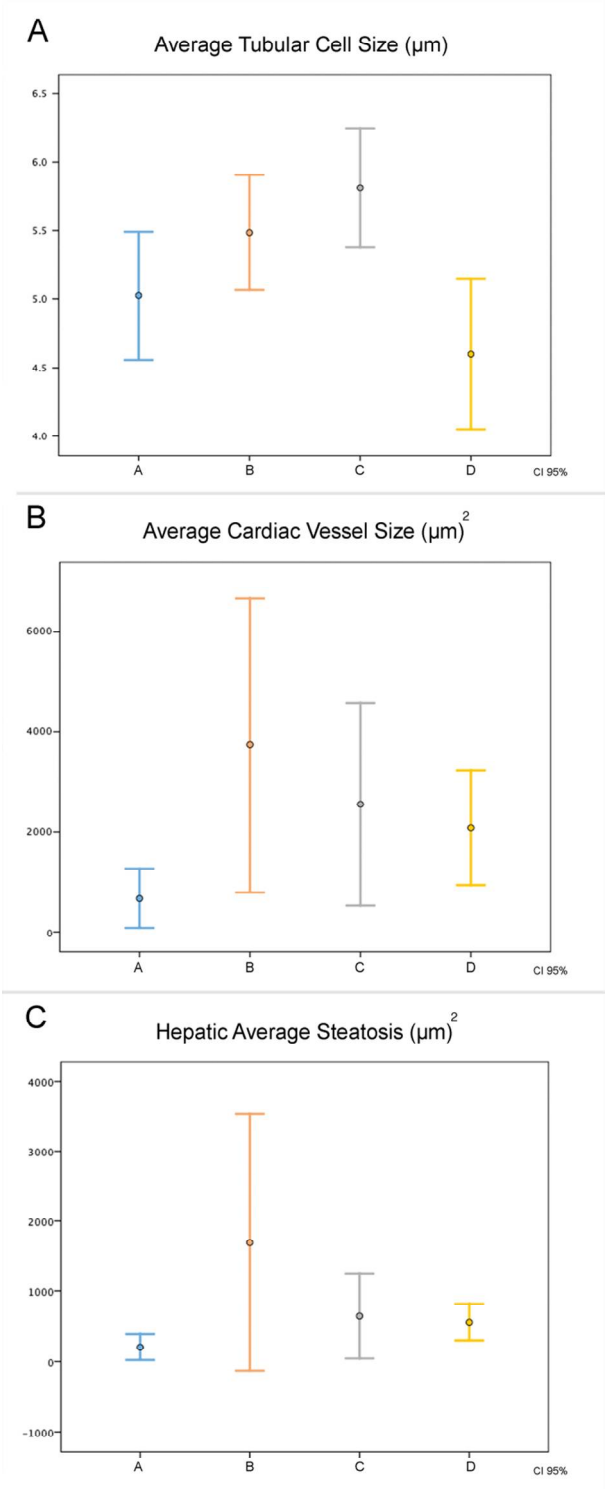
A
Average Tubular Cell Size (µm)
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
A
B
C
D
CI 95%
B
Average Cardiac Vessel Size (µm)2
6000
4000
2000
0
A
B
C
D
CI 95%
C
Hepatic Average Steatosis (µm)2
4000
3000
2000
1000
0
-1000
A
B
C
D
CI 95%

Figure 3

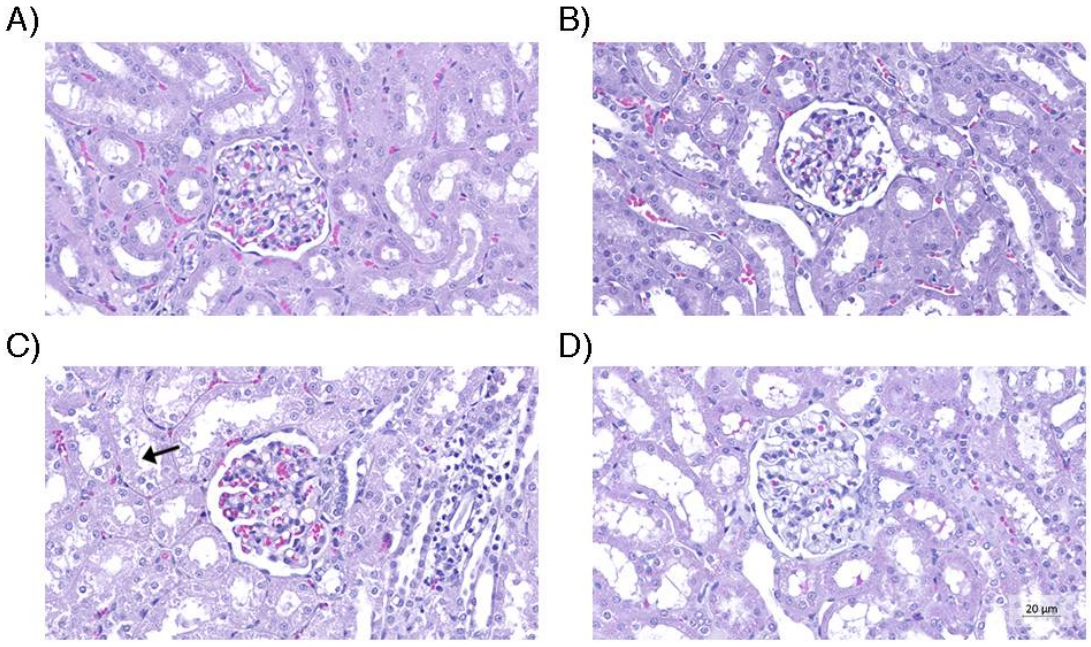


Figure 4

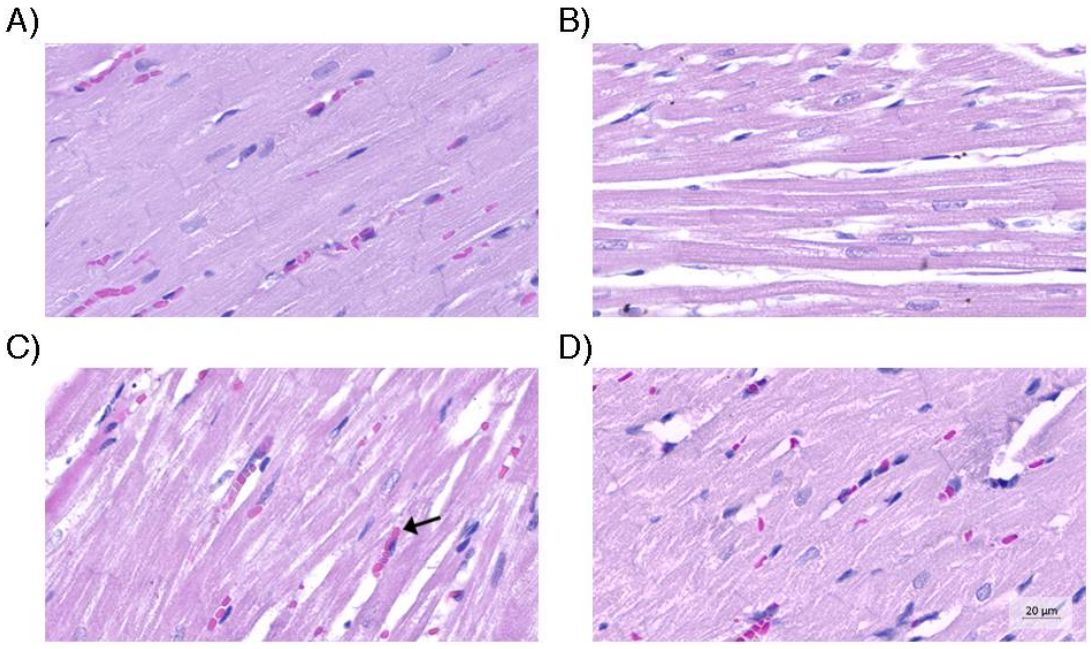


Figure 5

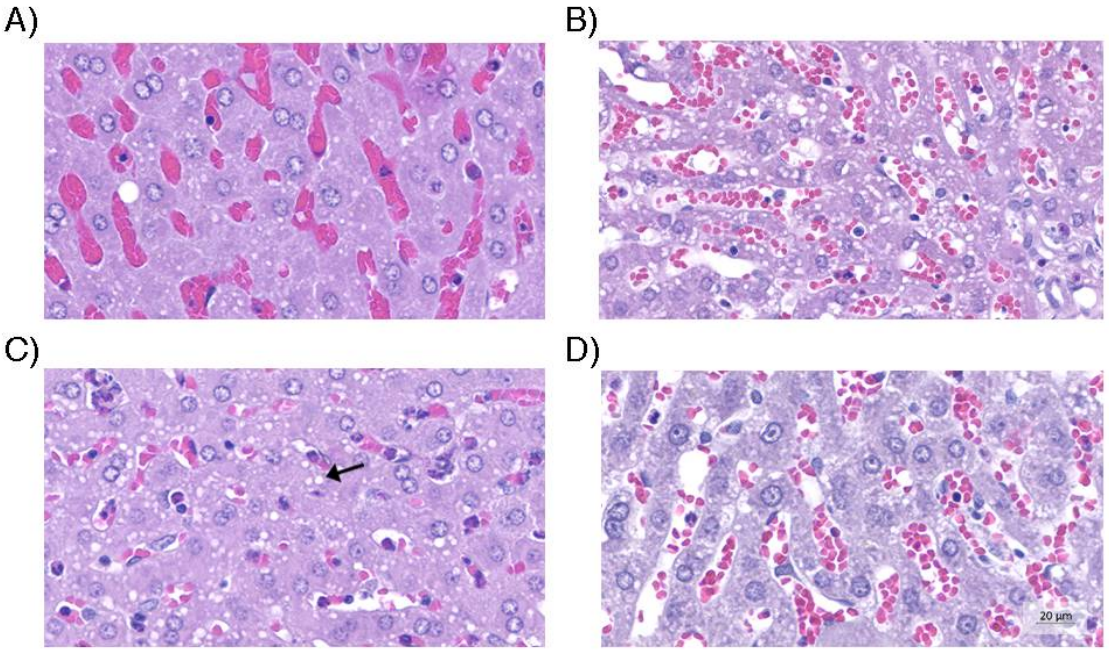


Figure 6