FABIO AUGUSTO DE LUCA

EFEITOS HEMODINÂMICOS E METABÓLICOS IMEDIATOS DA INFUSÃO DE SOLUÇÃO HIDROXIETILAMIDO (450/0,7) EM MODELO CANINO DE MORTE CEREBRAL.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Anestesiologia
Orientador: Prof. Dr. Ruy Jorge Cruz Junior

São Paulo
2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

De Luca, Fábio Augusto
Efeitos hemodinâmicos e metabólicos imediatos da infusão de solução hidroxietilamido (450/0,7) em modelo canino de morte cerebral / Fábio Augusto De Luca. -- São Paulo, 2009.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cirurgia.
Área de concentração: Anestesiologia.
Orientador: Ruy Jorge Cruz Junior.

Descritores: 1.Morte encefálica 2.Hetamido 3.Hemodinâmica/efeitos de drogas 4.Metabolismo 5.Cães

USP/FM/SBD-227/09

Dedicatória

Primeiramente dedico esta tese a minha esposa Simone, pela amizade e amor, por todos esses anos, todos os momentos enfrentados sempre com carinho e cumplicidade. Principalmente por proporcionar a maior alegria da minha vida com meus filhos maravilhosos: Giovanna e Pedro Augusto, razão indiscutível de nossas vidas.

Ao meu pai Pedro De Luca Neto, exemplo maior, meu maior ídolo desde a infância que me preparou e ainda me prepara e ensina para vida, a quem devo todo meu respeito e amor.

A minha mãe Vera, por todo amor, dedicação, grande responsável por minha educação, cultura e pela formação da minha personalidade.

Aos meus irmãos Pérsio e Maria Fernanda, companheiros e amigos, sempre presentes e marcantes em minha vida, agradeço todo apoio.

Aos irmãos que identifiquei durante o trajeto da medicina Mohamed Ibrahim Ali Taha e Rodrigo Luppino Assad que sempre me acompanharam, proporcionando amizade incondicional e ensinamentos constantes.

Dedicatória especial ao Prof. Dr. Carlos Gun, meu grande mestre, incentivador, amigo e modelo de profissional para mim e para todos seus alunos. Agradeço pois, não tenho dúvida que não teria realizado esta tese e nem metade das minhas conquistas profissionais sem seu apoio e direcionamento.

A André Luiz Degasperi Monzani (*in memorian*), irmão, amigo, que apesar de ausente mantém comigo seu espírito de alegria e amizade que me ajuda a enfrentar os desafios e as dificuldades.

Agradecimentos

Ao Prof Dr. Ruy Jorge Cruz Junior meu grande orientador, exemplo e inspiração para os colegas formados na Faculdade de Medicina de Santo Amaro. Agradeço por me proporcionar e encaminhar na pós-graduação, por todos ensinamentos durante esta tese e principalmente pela amizade de sempre.

À Profa. Dra Alejandra Garrido Gallardo, amiga, de grande caráter, agradeço muito pela imensa contribuição científica, com seu grande conhecimento na área e pelo total apoio nesta tese.

Ao Prof. Dr. Ricardo Prist pela ajuda na realização do método experimental adotado neste estudo.

Prof. Dr. Maurício Rocha e Silva pela oportunidade de desenvolver esta tese, no setor sob sua chefia, me proporcionando a rara possibilidade de desenvolvimento acadêmico.

Ao Prof Dr. Paulo Gutierrez, pela ajuda na interpretação e leitura das lâminas histológicas de experimento.

A Dra. Elisabete Toral pela execução e interpretação dos exames laboratoriais.

A Sra Elenice, Ricardo e Nelson, técnicos do laboratório de experimentação do INCOR, por todo apoio, paciência e trabalho a este estudo dispensado. Minha sincera gratidão.

"A vida e a morte são determinadas demais, por demais implacáveis para que sejam puramente acidentais."

“O homem não morre quando deixa de viver, mas sim quando deixa de amar”

(Charles Chaplin)

Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adapatdo do *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas
Lista de figuras
Lista de tabelas
Resumo
Summary

1. INTRODUÇÃO.....1
1.1. Conceitos de Morte Cerebral.....4
1.2. Conceitos de Infusão Volêmica.....8
1.2.1.Hidroxietilamido Conceitos Gerais.....11
1.2.2.Utilização Clínica do Hidroxietilamido.....15

2. **OBJETIVO.....18**

3. **MÉTODOS.....19**
3.1. Animais de Experimentação.....19
3.2. Experimento Piloto.....19
3.3. Preparo Experimental.....20
3.3.1.Anestesia.....20
3.3.2.Acesso Vascular.....21
3.3.3.Monitorização Cerebral.....25
3.3.4.Modelo de Morte Cerebral.....27
3.3.4.a Indução de Morte Cerebral.....27
3.3.4.b Período de Recuperação.....29
3.4. Grupos Experimentais.....30
3.5. Parâmetros Hemodinâmicos.....31
3.5.1.Medidas Hemodinâmicas.....31
3.5.1.a Pressão Arterial.....31
3.5.1.b Pressão de Oclusão.....31
3.5.1.c Fluxo da Artéria Hepática.....31
3.5.2.Débito Cardíaco.....32
3.5.3.Resistência Vascular Sistêmica e Pulmonar.....32
3.6. Medidas de transporte de oxigênio.....32
3.6.1.Oferta sistêmica, hepática e esplâncnica de oxigênio.....33
3.6.2.Consumo Sistêmico, hepático e esplâncnico de oxigênio.....34
3.6.3.Taxa de extração sistêmica e esplâncnica de oxigênio.....34
3.7. Variáveis Laboratoriais.....35
3.8. Análise Histológica.....35
3.9. Protocolos Experimentais.....36
3.10.Método Estatístico.....37

4. **RESULTADOS.....39**
4.1. Variáveis Hemodinâmicas.....39
4.2. Variáveis Laboratoriais e Dependentes de Oxigênio.....50
4.3. Variáveis Histológicas.....56

5. DISCUSSÃO.....61
5.1. Modelo de morte cerebral e efeitos da infusão volêmica.....62
5.2. Metodologia utilizada.....73
5.3. Considerações Finais.....80

6. **CONCLUSÃO.....82**

7. **REFERÊNCIAS.....91**

LISTA DE ABREVIATURAS

AST	aspartato-aminotransferase
ALT	alanino-aminotransferase
BL	*baseline*
BE	excesso de Base
ºC	graus centígrados
CA	Califórnia
cm	centímetros
CNCDOs	Centrais de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos
CO_2	dióxido de carbono
C_aO_2	conteúdo de oxigênio no sangue arterial
C_hO_2	conteúdo de oxigênio no sangue da veia hepática
C_pO_2	conteúdo de oxigênio no sangue da veia porta
C_vO_2	conteúdo de oxigênio no sangue venoso misto
CPK	creatinofosfoquinase
DC	débito cardíaco
DPM	desvio padrão da média
DO_2	oferta de oxigênio
DO_2esplanc	oferta esplâncnica de oxigênio
DO_2hepat	oferta hepática de oxigênio
DO_2sist	oferta de sistêmica oxigênio
EPM	erro padrão da média
EUA	Estados Unidos da América
FAH	fluxo de artéria hepática
FC	freqüência cardíaca
FVMS	fluxo da veia mesentérica superior
FVP	fluxo de veia porta
Hb	hemoglobina
Ht	hematócrito
Hb_a	hemoglobina arterial
Hb_h	hemoglobina no sangue da veia hepática

Hb_p	hemoglobina no sangue da veia porta
Hb_v	hemoglobina no sangue venoso misto
HES	hidroxietialmido (hydroxyethylstarch)
HIC	hipertensão intracraniana
Ht	hematócrito
kg	quilograma
min	minuto
ml	mililitro
mmHg	milímetro de mercúrio
MC	morte cerebral
O_2	oxigênio
PAM	pressão arterial média
PAP	pressão da artéria pulmonar
pH	potencial hidrogeniônico
PIC	pressão intracraniana
PMAP	pressão média da artéria pulmonar
pmp/ano	por milhão de população por ano
POAP	pressão de oclusão da artéria pulmonar
pCO_2	pressão parcial de dióxido de carbono
p_aCO_2	pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial
p_pCO_2	pressão parcial de dióxido de carbono no sangue da veia porta
p_vCO_2	pressão parcial de dióxido de carbono no sangue venoso misto
PPC	pressão de perfusão cerebral
p_aO_2	pressão parcial de oxigênio no sangue arterial
p_hO_2	pressão parcial de oxigênio no sangue da veia hepática
p_pO_2	pressão parcial de oxigênio no sangue da veia porta
p_vO_2	pressão parcial de oxigênio no sangue venoso misto
RVP	resistência vascular pulmonar
RVS	resistência vascular sistêmica
sc	superfície corpórea
SDC	serviço de documentação
S_aO_2	saturação arterial de oxigênio

S_hO_2	saturação de oxigênio no sangue hepático
S_pO_2	saturação de oxigênio no sangue porta
S_vO_2	saturação de oxigênio no sangue venoso misto
SSI	solução salina isotônica
TEO_2	taxa de extração de oxigênio
TEO_2esplanc	taxa de extração esplâncnica de oxigênio
TEO_2hepat	taxa de extração hepática de oxigênio
TEO_2mesent	taxa de extração mesentérica de oxigênio
TEO_2sist	taxa de extração sistêmica de oxigênio
VO_2	consumo de oxigênio
VO_2esplanc	consumo esplâncnico de oxigênio
VO_2hepat	consumo hepático de oxigênio
VO_2mesent	consumo mesentérico de oxigênio
VO_2sist	consumo sistêmico de oxigênio
VS	*versus*

Lista de Figuras

Figura 01. Estrutura química e molecular do hidroxioetilamido.....13

Figura 02. Hidroxilação em molécula de glicose.....13

Figura 03. Isolamento da artéria e veia esplênica.....23

Figura 04. Introdução de cateter em veia porta através de veia esplênica.23

Figura 05. A) Exposição e localização de artéria hepática e veia porta, B) Isolamento vascular, C) Colocação dos fluxômetros.....24

Figura 06. Monitor dos fluxos de artéria hepática e veia porta.....24

Figura 07. A) Incisão e remoção de pele e musculatura craniana, B)Trepanação temporal 25

Figura 08. A) Exposição da dura mater após trepanação, B) Posicionamento do cateter de pressão intracraniana.....26

Figura 09. A) Coleta de sangue em seio transverso, B) Cateter de Foley..27

Figura 10. Preparo final do crânio para indução de morte cerebral.....29

Figura 11. Delineamento experimental.....37

Figura 12. Volume total administrado.....40

Figura 13. Evolução da pressão de perfusão cerebral.....41

Figura 14. Evolução da média da pressão arterial.....42

Figura 15. Evolução das medidas do débito cardíaco.....44

Figura 16. Evolução dos fluxos na veia porta e da artéria hepática.....45

Figura 17 Razão do fluxo da veia porta com o débito cardíaco.....46

Figura 18. Razão do fluxo da artéria hepática com o débito cardíaco.....47

Figura 19. Evolução das medidas séricas de potássio.....54

Figura 20. Evolução das medidas séricas de albumina.....55

Figura 21. Evolução das medidas séricas de AST.....55

Figura 22. Corte histológico de encéfalo.....56

Figura 23. Corte histológico de pulmão.....57

Figura 24. Corte histológico de fígado.....58

Figura 25. Corte histológico de intestino.....59

Figura 26. Corte histológico de intestino.....59

Figura 27. Corte histológico de rim.....60

Lista de Tabelas

Tabela 01. Critérios para diagnóstico clínico de morte cerebral.....06

Tabela 02. Soluções de HES conforme peso molecular.....12

Tabela 03. Distribuição dos grupos experimentais.....30

Tabela 04. Composição das soluções utilizadas na fase infusão volêmica 30

Tabela 05. Variação das médias dos parâmetros hemodinâmicos.....49

Tabela 06. Variação das médias de oferta, consumo e taxa de extração de oxigênio nos territórios (sistêmico, esplâncnico e hepático).....51

Tabela 07. Variação das médias dos parâmetros gasométricos nos momentos experimentais.....52

Tabela 08. Variação das médias dos parâmetros laboratoriais nos momentos experimentais.....53

RESUMO

De Luca FA. **Efeitos hemodinâmicos e metabólicos imediatos da infusão de solução hidroxietilamido (450/0,7) em modelo canino de morte cerebral.** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2009. 117p.

Hidroxetilamido (HES) é um polímero sintético da glicose e tem sido indicado em situações onde é necessária à expansão plasmática de longa duração. O objetivo deste estudo foi testar a hipótese que a infusão de pequeno volume de HES (450/0, 7 6%) pode promover os mesmo benefícios hemodinâmicos e metabólicos, sistêmicos e regionais, da infusão de grandes volumes de cristalóides em modelo experimental de morte cerebral. **MÉTODOS:** Quatorze cães foram anestesiados e submetidos à ventilação mecânica. A morte cerebral foi induzida através de insuflação de um balão locado no espaço extradural. Uma hora após o início da indução da morte cerebral os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais: SS (0,9% NaCl, 33ml/kg, n=7) e HES (6% hidroxietilamido 450/0,7, 17 ml/Kg, n=7). As variáveis hemodinâmicas foram obtidas através de cateter posicionado na aorta torácica e um cateter de Swan-Ganz. A avaliação da perfusão esplâncnica foi realizada com cateteres posicionados nas veias porta e hepática, e através de fluxômetro ultra-sônicos. A oferta, consumo e taxas de extração sistêmica, hepática e esplâncnica de oxigênio foram calculados por meio de fórmulas padrão. Amostras de sangue foram colhidas durante todo o protocolo experimental para análise gasométrica e bioquímica. **RESULTADOS:** A insuflação do balão no espaço extradural induziu um aumento significativo da pressão arterial média (PAM), do débito cardíaco (DC), do fluxo sanguíneo regional e da resistência vascular sistêmica. Após a fase hiperdinâmica, observou-se um período de hipotensão severa com normalização do fluxo sistêmico e regional. A ressuscitação volêmica induziu um aumento imediato da PAM, DC, do fluxo da veia porta e redução da resistência vascular sistêmica e pulmonar. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação aos índices metabólicos e a função renal e hepática. Ambas as soluções restauraram temporariamente a oferta sistêmica e regional de oxigênio. **CONCLUSAO:** A infusão de pequeno volume da solução de hidroxietilamido (HES 450/0, 7 6%) apresenta efeitos hemodinâmicos e metabólicos, sistêmicos e regionais, similares a ressuscitação com grande volume de solução salina isotônica em modelo canino de morte cerebral.

Descritores: 1.Morte encefálica 2.Hetamido 3.Hemodinâmica/efeitos de drogas 4.Metabolismo 5.Cães

SUMMARY

De Luca FA. **Short-term effects of hydroxyethylstarch (450/0.7) resuscitation on systemic and regional hemodynamics and metabolism in a brain-dead canine model.** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2009 117p.

Hydroxyethylstarch (HES) is a synthetic polymer of glucose that has been suggested for therapeutic use in long-term plasma expansion. The aim of this study was to test the hypothesis that the infusion of a small volume of HES may provide benefits in systemic and regional hemodynamics and metabolism in a brain-dead canine model when compared to large volume crystalloid resuscitation. **METHODS:** Fourteen mongrel dogs were subjected to a brain-death protocol by consecutive insufflations of a balloon catheter in the epidural space. One hour after induction of brain-death, the animals were randomly assigned to two groups: NS (0.9% NaCl, 33 ml/kg) and HES (6%HES 450/0.7, 17 ml/Kg). Systemic and regional hemodynamics were evaluated using Swan-Ganz, ultrasonic flowprobes, and arterial catheters. Serial blood samples were collected for blood gas, electrolyte and serum chemistry analysis. Systemic, hepatic and splanchnic O_2-derived variables were also calculated. **RESULTS:** Epidural balloon insufflations induced a significant increase in mean arterial pressure, cardiac output (MAP and CO, respectively), regional blood flow and systemic vascular resistance. Following the hyperdynamic phase, severe hypotension with normalization of systemic and regional blood flows was observed. Fluid resuscitation induced a prompt increase in MAP, CO, and portal vein blood flow and a significant reduction in systemic and pulmonary vascular resistance. There were no differences observed between groups in metabolic indices, LFTs or renal function tests. Both tested solutions partially and temporarily restored systemic and regional oxygen delivery. **CONCLUSION:** Small volumes of 6% HES 450/0.7 infusion provided the same systemic and regional hemodynamic and metabolic benefits of large volumes of isotonic crystalloid solutions in a hypotensive brain-dead canine model.

Keywords: 1.Brain Death 2.Hetastarch 3.Hemodynamics/drug effects 4.Metabolism 5.Dogs

1. INTRODUÇÃO

A história do transplante de órgãos sólidos em humanos foi iniciada em 1954 quando Joseph Murray e equipe conduziram os primeiros estudos, possibilitando, em 1962, o primeiro transplante de rim cadáver com sucesso. Em seguida, Starzl e Hardy, em 1963, realizaram, respectivamente, transplantes de fígado e pulmão (MURRAY E HOLDEN, 1954; STARZL et al. 1963; HARDY et al., 1963; MIES, 1998; MACHADO, 2005).

Nas últimas décadas, o desenvolvimento das técnicas operatórias, das soluções de preservação, dos agentes imunossupressores, dos cuidados intensivos, entre outras ações, proporcionou melhores resultados aos transplantes. Este avanço tem determinado o transplante de órgãos como tratamento de escolha, para doenças em estágio terminal (GARCIA et al., 2006).

Atualmente, uma das maiores dificuldades relacionadas ao procedimento é a demanda de órgãos, que suplanta a disponibilidade atual (WOOD et al., 2004). Mesmo com a evolução de técnicas de transplante *intervivos*, a maior parte dos transplantes é ainda realizada a partir de doadores cadáveres (PRATSCHKE E VOLK, 2002; HOWARD et al., 2005). Apesar dos avanços, principalmente nos Estados Unidos e na Europa, no que tange à captação de órgãos em doadores denominados *non heart beating* (doação após a morte cardíaca), os doadores em morte

cerebral continuam sendo a principal fonte de órgãos para doação. (MARSHAL, 2001; GARCIA, 2006; STEINBROOK, 2007).

Conforme estudo de Sheehy et al. em 2003, a lista de espera para transplante de órgãos sólidos, nos Estados Unidos, chega a 87.117 pacientes, com um potencial de doadores cadáveres em morte cerebral de 18,524[6]. Em 2006, apesar da realização de cerca de 29.000 transplantes, a lista de espera aumentou para cerca de 97.000 pacientes.

No Brasil, em 2004, com população estimada de 170 milhões de habitantes foram informados, às Centrais de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos (CNCDOs), 4.981 potencias doadores, 50% da taxa média prevista. Desses, 1.232 foram efetivados, 25% do total de notificados. Para tanto, o resultado final foi de 7,3 doações por milhão de população por ano (pmp/ano), ou seja, muito abaixo da necessidade e da média estimada em outros países (GARCIA, 2006) .

Apesar dos avanços nas técnicas de captação e preservação de órgãos e tecidos, os fatores não imunológicos presentes no período prévio à implementação do enxerto têm sido subestimados como fator decisivo nas taxas de sobrevida e na disfunção primária do enxerto (HERIJERS et al., 2004; KOUDSTAAL et al., 2005; AVLONITIS et al., 2007).

A morte cerebral (MC) em doadores de órgãos está associada a este tipo de influência não imunológica, acarretando significativas

variações hemodinâmicas, inflamatórias e hormonais que cursam com alterações fisiológicas teciduais e do metabolismo em geral, podendo ter impacto fundamental na qualidade do órgão a ser implantado (GASSER et al., 2000; NIJBOER et al.. 2004; KUECUEK et al.; 2005; NOVITZKY et al., 2006)

Vários estudos demonstram a relação das alterações hemodinâmicas e metabólicas ocorridas durante a morte cerebral e a qualidade do enxerto (SATURE et al., 1998; COOPER E BASKER, 1999; RYAN et al., 2000; VAN DER HOEVEN et al., 2001; MANGINO, 2003; OISHI et al., 2003).

A denominada “tempestade autonômica” que ocorre após a morte cerebral, determina a caótica variação da frequência cardíaca, da pressão arterial, arritmias, falência ventrícular esquerda, edema pulmonar, hipotermia, alterações eletrolíticas, coagulopatia, liberação de citoquinas, distúrbios hormonais e alteração de mecanismo aeróbico para anaeróbico, promovendo dano tecidual nos órgãos de pacientes em MC (COHEN et al., 2002; SMITH, 2004; NIJBOER, 2004)

Experimentos descritivos sobre a evolução da MC são relatados desde 1980 e atualmente servem de base para estudos multivariados para preservação de órgãos para transplante (NOVITZKY et al., 2006).

Vários estudos visam a avaliar práticas terapêuticas em doadores em MC como meio de prevenção à lesão tecidual, reduzindo, desta forma,

a resposta inflamatória sistêmica, melhorando - em última análise - a perfusão tecidual (RANDELL et al.,1990; OGAWA et al., 2002; ROSENDALE et al., 2003; KARCIOGLU et al., 2003; SZABÓ et al., 2006; MASCIA et al., 2006)

O significante aumento do número de transplante e o conhecimento fisiopatológico das complicações relacionadas ao procedimento determina a busca incessante da comunidade médica por novas técnicas de preservação e otimização (pré-doação) dos órgãos transplantados. A reposição volêmica compreende uma dessas possibilidades, no entanto, o tipo e modo da reposição de fluidos ainda permanecem indefinidas (CORONEL, 1994; KUTSOGIANNIS et al., 2006).

1.1 Conceitos de Morte Cerebral

Em 1959, Mollaret e Goulon introduziram o termo *coma dépassé* (coma irreversível) em estudo com 23 pacientes com perda de consciência, de reflexos do tronco cerebral, ausência da respiração e eletroencefalograma isoelétrico (WIJDICKS, 2001).

A origem dos critérios de MC é atribuida ao Dr. Guy Alexandre que, em 1963, fez a primeira descrição acerca dos parâmetros neurológicos necessários para o diagnóstico de MC. Viabilizando, desta forma, a doação de orgãos e tecidos (MACHADO, 2005).

No entanto, o marco histórico para padronização ocorreu em 1968 com a publicação dos critérios de MC elaborados pela Universidade de Harvard.

Mais recentemente, a Academia Americana de Neurologia, em revisões, baseadas em evidência, propôs uma diretriz para confirmação diagnóstica da MC (WIJDICKS, 2001; OROPELLO, 2004; MACHADO, 2005).

A MC envolve o estado de cessação prolongada e irreversível de toda atividade cerebral, evoluindo com ausência completa de movimentos voluntários, respostas a estímulos, reflexos do tronco cerebral e respiração espontânea (POWNER et al. 2004)

Salienta-se que condições reversíveis que mimetizam este estado clínico (como exemplo: superdosagem de sedativos, hipotermia, distúrbios hidroeletrolíticos entre outras) devem ser previamente excluídas (PEREIRA et al.,2006).

O exame clínico neurológico permanece determinante para o diagnóstico de MC e é adotado como padrão na maioria dos países. O exame neurológico clínico inclui a documentação do coma, ausência de reflexos do tronco cerebral e apnéa (**Tabela 1**). A avaliação dos reflexos do tronco cerebral requer exame dos reflexos da via mesencefálica, ponte e bulbo (WIJDICKS 2001; TRUOG et al. 2003).

De acordo com a primeira reunião de diretrizes para captação de órgãos da associação brasileira de transplante de órgãos, em 2003, o diagnóstico de MC deve ser realizado por dois exames clínicos neurológicos e um exame complementar, resolução do Conselho Federal de Medicina nº 1.480/97 (PEREIRA et al., 2006).

Tabela 1 – Critérios para diagnóstico clínico de morte cerebral
1. **Coma** 2. **Ausência de Resposta Motora** 3. **Ausência de Reflexo Córneo-Palpebral** 4. **Ausência de Reflexo Fotomotor** 5. **Ausência de Reflexo de Tosse** 6. **Ausência de Tosse após sucção da traquéia** 7. **Ausência de Reflexo Oculovestibular** 8. **Ausência de Reflexo Oculocefálico** 9. **Ausência de Resposta Calórica** 10. **Ausência de *drive* respiratório com PCO_2 arterial de 60mmHg ou 20mmHg acima dos valores iniciais normais.**

Fonte; adaptado de Widjicks,2001, p5 ; Garcia et al.,2006, p10.

Recentemente a discussão da influência da MC na evolução a curto e médio prazo do enxerto tem sido abordada por estudos experimentais, elucidando aspectos fundamentais dessa relação (GRAMM et al., 1992; PRATSCHKE e VOLK, 1999; COMPAGNON et al., 2002; DIMOPOULOU et al., 2003; GOLLING et al., 2003; SZABÓ et al, 2002; ZHANG e CHEN 2004).

A hipertensão intracraniana acarreta uma série de manifestações neurofisiológicas denominadas “tempestade autonômica”. Na fase inicial, ocorre um predomínio da atividade parassimpática, marcada por uma acentuada bradicardia. Na sequência, observa-se uma importante descarga simpática promovendo um período breve, porém intenso de hipertensão arterial e de taquicardia que acompanham o processo de herniação do tronco cerebral (Cintra et al., 2000; Pereira et al., 2006).

Numa fase tardia, ocorre hipotensão acentuada, sendo quase que invariavelmente necessária utilização de soluções expansoras, inotrópicos para a manutenção da perfusão orgânica (MERTES et al., 1994; SÁNCHEZ-OLMEDO et al., 2005; BITTNER et al., 2006).

Apesar do substancial aumento da pressão arterial na fase inicial, boa parte dos tecidos inicia episódios isquêmicos em decorrência da vasoconstricção, aumento da resistência vascular e significante redução do fluxo local (PRATSCHKE, 1999).

Numa segunda etapa, a MC origina disfunção do centro vasomotor e diminuição da liberação de catecolaminas, com consequente vasodilatação e diminuição da resistência vascular sistêmica. O déficit de produção de hormônio antidiurético (arginina-vasopressina) associado à desidratação secundária a poliúria (diabete insípido) também são fatores determinantes para hipovolemia e agravamento da hipotensão (CINTRA et al., 2000).

No coração, essa cascata acarreta um aumento do trabalho do miocárdio, do consumo de oxigênio (O_2) entre outros parâmetros funcionais. O suprimento de O_2 para o coração, apesar de aumentado, é insuficiente para a demanda e acaba evoluindo para isquemia. Após o quadro hipertensivo inicial, ocorre uma redução da atividade simpática, da resistência vascular e, posteriormente, depressão da contratilidade miocárdica (SATUR et al., 1998; RYAN et al., 2000; OISHI et al., 2003). A redução da pressão de perfusão e a perda da autorregulação vascular

promovem queda da perfusão tecidual e da oferta de O_2 aos tecidos (WOOD et al., 2004).

Bittner et al. (1995) demonstraram os efeitos da MC na hemodinâmica cardiopulmonar, ressaltando a redução da impedância e da pós-carga do ventrículo direito relacionados principalmente pela perda do tônus vasomotor. Neste estudo, foi observada evolução para significante aumento do fluxo pulmonar e consequente edema. O conteúdo de líquido extravascular pulmonar chega a aumentar cerca de 10% após a MC.

Em função da agressão tecidual relacionada à MC, as diretrizes relacionadas à manutenção do potencial doador visam a medidas para a manutenção da estabilidade hemodinâmica e preservação da viabilidade e da qualidade dos órgãos e tecidos para transplante (PEREIRA et al., 2006).

1.2 Conceitos de Infusão Volêmica

Sistemáticas revisões baseadas em metanálises de estudos randomizados sobre a utilização de soluções de coloide *versus* cristaloides, em pacientes graves, têm produzido resultados conflitantes principalmente em relação aos índices de mortalidade (ALDERSON et al. 2002; FINFER et al. - *SAFE Study Investigators*, 2004; WEIL E TANG,

2004; COOPER, 2005; NASCIMENTO et al., 2006; NOPPENS et al., 2006).

Estudos como o *Cochrane Injuries Albumin Reviewrs* (1998) e as metanálises realizadas por Choi et al. (1999) e Wilkes et al. (2001), obtiveram resultados divergentes. No primeiro estudo, demonstra-se desvantagem para o uso de coloide, porém sem diferenças significativas nos outros dois.

Vicent et al. (2002) realizaram a compilação de 71 estudos, com um total de 3.800 pacientes críticos, concluíram que existe redução da incidência de complicações com a utilização da combinação de albumina e cristaloides quando comparado ao grupo sem uso de coloides.

A principal crítica a esses estudos relaciona-se à diversidade de condições clínicas dos pacientes analisados e à magnitude da doença ou da lesão primária. Outras dificuldades são relacionadas aos diferentes procedimentos, medicamentos e quantidade de fluídos administrados.

Na tentativa de minimizar alguns desses problemas, o estudo SAFE avaliou 7.000 pacientes graves, com um protocolo mais direto, organizado e controlado. A mortalidade entre os grupos de coloide e cristaloide não teve diferença estatística, porém ocorreu uma tendência a maiores efeitos adversos com uso de albumina em subgrupo de pacientes vítimas de trauma (WEIL e TANG, 2004; FINFER et al. - *SAFE Study Investigators*, 2004; MYBURGH et al -*The SAFE Study Invetigators*, 2007).

Apesar de a hipótese realizada por Vicent et al. (2002), de que estados fisiopatológicos específicos poderiam apresentar diferenças de resultados com uso de uma solução sobre a outra, os dados permanecem indefinidos.

Análises mais recentes, como a de Weil et al. (2004) e de Finfer et al. - *SAFE Study Investigators* (2004) permitem identificar uma tendência de utilização de cristaloides para pacientes vítimas de lesões traumáticas e cirurgias eletivas. Em contraste, pacientes com complicações clínicas graves como falência hepatorrenal, hipoproteinemia grave, sepsis entre outras têm mostrado benefício com uso de soluções de coloide (ALDERSON et al., 2002; ORLINSKY et al., 2001).

No presente momento, não há consenso quanto ao melhor modo de manutenção da estabilidade hemodinâmica e da preservação da perfusão esplâncnica de pacientes em morte cerebral.

Na maioria dos centros, a reposição volêmica com cristaloides tem sido realizada em quantidade e velocidade de infusão suficientes para manutenção da pressão arterial sistólica acima de 100 mmHg, e da pressão venosa central em torno de 12 mmHg. Caso não ocorra sucesso na manutenção hemodinâmica sistêmica, inicia-se a prescrição de aminas vasoativas como a dopamina e a noradrenalina, via intravenosa.

Ressalta-se que o uso de aminas vasoativas tem intenso ou, em alguns casos, exclusiva ação alfa-adrenérgica, devendo ser evitados ao

máximo para preservação do potencial doador (KUTSOGIANNIS et al., 2006; GARCIA et al., 2006).

Apesar da consistente relação entre as alterações hemodinâmicas e a MC, a escassez de estudos sobre a melhor estratégia de reposição volêmica, nos doadores de órgãos, faz permanecer a dúvida sobre um eventual benefício na perfusão tecidual com tipo de solução escolhida.

Em um passado não muito distante, a reposição volêmica era realizada quase exclusivamente com albumina e gelatinas modificadas. Atualmente, novas soluções como as fórmulas baseadas em dextrans e hidroxietilamidos foram incorporadas na prática clínica. Estas soluções apresentam como vantagens manutenção mais prolongada do poder oncótico, com redução de custo, além da redução dos efeitos colaterais (SHOEMAKER ,1976; ORLINSKY et al., 2001).

1.2.1. Hidroxietilamido Conceitos Gerais

Devido às suas propriedades farmacodinâmicas o hidroxetilamido (HES), apresenta características favoráveis para uso clínico. Este composto é resultado da modificação natural do polímero de amilopectina (sacarídeo componente do amido) que foi inicialmente utilizado como expansor volêmico na França em 1991 (CITTANOVA et al.,1996; TREIB ET AL., 1999).

Ressalta-se que nos EUA até pouco tempo apenas o HES (480/0.7-6%) era aprovado para expansão plasmática (TREIB et al.,1999). A variedade de soluções de HES existentes no mundo difere nas propriedades farmacológicas. As características principais são relacionadas ao grau de substituição e à variação do peso molecular, esta última dividida em três categorias, conforme a **Tabela 2**:

Tabela 2 –
Classificação das soluções de HES conforme peso molecular
1) Alto Peso Molecular – (450-480 kDa)
2) Médio Peso Molecular – (200 kDa)
3) Baixo Peso Molecular – (70 kDa)

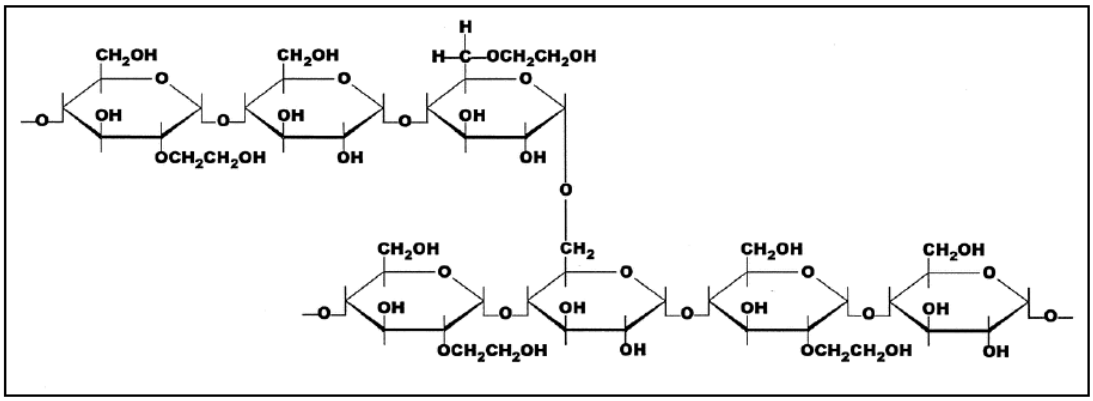
Fonte: adaptado de Treib et al 1999, p11.

A taxa de metabolização do HES depende principalmente do grau de substituição do hidroxietil, que são determinados por uma taxa calculada pelo número de moléculas glicose hidroxietiladas (principalmente nas posições de carbono 2, 3 e 6) divididas pelo número total de moléculas de glicose.

Os graus de substituição variam de 0,4 a 0,7. Altos graus de substituição levam à metabolização lenta do HES, resultando em alto peso molecular do composto *in vivo* (CHAMORRO et al., 2004).

A taxa de metabolização da solução de HES também é influenciada pelo local de hidroxietilação das moléculas de glicose, sendo determinada pela relação entre os átomos C2 e C6 (**Figuras 1** e **2**) .

Quanto maior a taxa C2/C6, mais lenta é a metabolização do HES (MIRANDA et al., 2004; DAVIDSON, 2006)



Fonte: adaptado de CHAMORRO et al., 2004, p.12

Figura 1- Estrutura química e molecular do hidroxioetilamido.

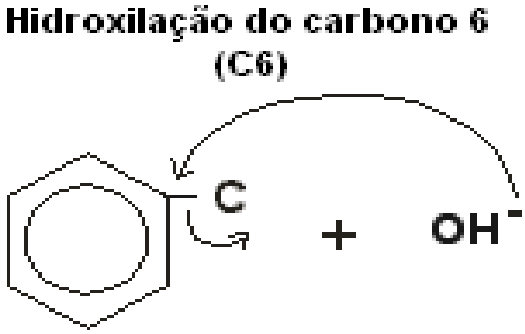


Figura 2 – Ilustração de hidroxilação em molécula de glicose posição 6 (C6).

A maioria das soluções de HES é efetiva na expansão volêmica e não apresenta taxas de complicações significativas relacionadas a distúrbios de hemostasia (HUET et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2002; KASPER et al., 2003; THALER et al., 2005). Autores como Macintyre et

al. (1985) e Sade et al. (1983) referem que o HES 480/0,7 quando administrado em dose diárias de até 1,5 litros não acarreta aumento de eventos hemorrágicos e alterações significativas da coagulação.

Além disso, as taxas de reações anafiláticas são pequenas, como relatado por Chamorro et al. (2004), por meio da análise do estudo francês conduzido por Laxenaire et al. (1994), determinando esse tipo de efeito colateral em aproximadamente 0,06% dos pacientes.

Por apresentar um volume efetivo de aproximadamente 100% e uma meia vida de 6 a 8 horas, o HES 450/0,7 6% (PLASMIN®) tem indicação comprovada em planos terapêuticos, envolvendo necessidade de expansão plasmática de longa duração.

Um litro de HES 450/0,7 6% promove um aumento de 36% da pressão coloidosmótica, comparado a 11% de aumento realizado por um litro de albumina e a uma redução de 12% na infusão de um litro de solução fisiológica 0,9% (TREIB et al., 1999).

Outra importante relação entre o uso da solução de hidroxetilamido e de salina é relacionada ao volume necessário para ressucitação. Rackow et al. (1983) demonstraram uma redução significativa do volume de solução necessária para recuperação da estabilidade hemodinâmica em pacientes traumatizados com o uso de HES (4.466ml *versus* 6.371ml). Ademais, a ressuscitação com salina foi relacionada a aumento da incidência de edema pulmonar 87% *versus* 22% quando comparado com a albumina e HES.

As doses utilizadas de HES variam conforme o estudo; no entanto, alguns autores como Deman et al. (1999) e Chamorro et al. (2004) preconizam o uso de doses de HES 450/0,7 6% inferiores a 20ml/kg/dia, objetivando a preservação da função renal e redução de alterações hematológicas.

O HES não é imunogênico, sendo relacionado a discretas alterações de coagulação, sem hemorragia clinicamente significativa na maioria dos estudos. A infusão de HES também é relacionada à queda do hematócrito diretamente proporcional à diluição de proteínas plasmáticas (FRAGA et al., 2005).

1.2.2. Utilização Clínica do Hidroxietilamido

Apesar das principais diretrizes descreverem a importância da preservação da perfusão orgânica no doador e ressaltarem as complicações relacionadas à falta de manutenção dos parâmetros clínicos, poucos estudos compararam métodos de suporte para melhora hemodinâmica (sistêmica e regional) do paciente em morte cerebral.

Randell et al. (1990) descreveram que frequentemente doadores em MC apresentam desidratação e distúrbios eletrolíticos graves, afetando diretamente a evolução nos transplantes de fígado. Neste estudo, dezesseis doadores de fígado foram incluídos para comparação entre dois planos de infusão volêmica: solução coloide associada à

reposição eletrolítica versus solução de cristaloide. Os autores demonstraram que o grupo coloide (HES) necessitou de menor volume para manutenção hemodinâmica com menor formação de edema intersticial em relação ao grupo cristaloide.

O uso de HES também foi abordado para transplantes de rim por Coronel et al. (1994) que compararam o uso deste coloide com albumina humana. Os resultados não demonstraram diferenças significativas entre os grupos quanto: alterações de coagulação, volume utilizado, causa da insuficiência renal e nem o tempo de isquemia. Sendo ressaltada a redução de custo em longo prazo do grupo HES.

Apesar de resultados favoráveis, destaca-se que altas doses de HES podem promover efeitos maléficos como a piora da função renal. Conforme demonstrado por Cittanova et al. (1996), essa ação renal continua sendo motivo de discussão, visto resultados conflitantes na literatura (LIU et al., 2004; BOLDT et al., 2002).

Deman et al. (1999) avaliaram 119 transplantes renais com o uso de duas soluções distintas de HES, comparando estas com um grupo controle com infusão de albumina. Não foi encontrada diferença significativa na função renal com o uso de HES em comparação ao grupo controle.

Os autores atribuíram os resultados adversos de Cittanova et al. (1996), ao uso de solução de HES de baixo peso molecular, com médio grau de substituição (200kDa e 0,62) em grande volume (33ml/kg). Em

decorrência disso, preconizaram - em seu estudo - o uso de duas soluções de HES: uma, de baixo peso molecular e baixo grau de substituição (200kDa e 0,5) e, outra, de alto peso molecular e alto grau (450kDa e 0,7).

As soluções de HES utilizadas por Deman et al. (1999) apresentaram farmacocinética semelhante entre elas, ambas com meia vida de 24h, diferindo da solução de HES utilizada por Cittanova et al. (1996), com meia vida de 6 horas. Apesar do tempo mais prolongado de ação das soluções de HES ser relacionado ao maior acúmulo nas células tubulares do epitélio renal, é possível maior impacto na disfunção renal. Para tanto, a ausência de toxicidade, relatada por Deman, foi relacionada ao menor volume infundido em relação ao estudo de Cittanova.

Em vista dos poucos estudos comparativos com análise sistêmica e regional dos parâmetros hemodinâmicos e metabólicos entre as diferentes soluções para reposição volêmica, torna-se significativa a busca para determinação da melhor estratégia para manutenção hemodinâmica de órgãos em doadores em MC.

2. OBJETIVO

Avaliar os potenciais benefícios hemodinâmicos e metabólicos imediatos, da utilização da solução de hidroxietilamido (HES 450/0,7), como

agente expansor na hipoperfusão sistêmica e regional induzida por modelo experimental de morte cerebral.

3. MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido na Divisão de Experimentação do

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em aderência aos princípios do *National Institute of Health* (1985) e *The American Physiological Society* (1995) para o cuidado, manipulação e utilização de animais de laboratório.

O protocolo foi submetido e aprovado pela Comissão Científica do Departamento de Cardiopneumologia (protocolo número – SDC 2768/06/013) e pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (protocolo número 09006).

3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 14 cães, sem raça definida, pesando de 10 a 25 kg. Os animais foram mantidos por um período de jejum de 12 horas antes do experimento, tendo livre acesso à água.

3.2 EXPERIMENTO PILOTO

Foi realizado um estudo piloto em 05 cães, com peso de 16,3±1,7kg (média±EPM), para a padronização da técnica operatória e do protocolo experimental. O método para morte cerebral, o tempo de indução, o volume de solução cristaloide e coloide infundida, entre outras variáveis foram determinadas durante esta fase piloto.

O intervalo de tempo entre a interrupção do anestésico inalatório (halotano) e o período de avaliação dos reflexos neurológicos também foi estabelecido no estudo-piloto.

Para tanto, foi reduzido sistematicamente o tempo do anestésico inalatório e observado nos animais do estudo-piloto a partir da indução da MC o tempo mínimo de uso de anestesia até a ausência de resposta dolorosa, sendo definido este tempo em 5 minutos.

Os reflexos neurológicos (fotomotor, córneo-palpebral e oculocefálico, e resposta motora) foram avaliados no estudo-piloto de forma seriada durante a indução, ficando estabelecida sua avaliação pré-indução (em que deveriam estar normais), logo após interrupção do anestésico e após o final da indução da MC.

3.3 PREPARO EXPERIMENTAL

3.3.1 Anestesia

Os animais receberam ketamina 50mg/kg intramuscular como pré-anestésico e a indução anestésica foi realizada após intubação com halotano inalatório (dose máxima de 1,5%). O plano anestésico foi mantido pela infusão de ketamina 10mg/kg IV, quando necessária e interrompida após o quinto minuto do início da indução da MC.

Após intubação orotraqueal, os animais foram submetidos à ventilação mecânica controlada com ciclo a volume (Respirador Takaoka),

com volume corrente de 10 ml/kg e fração inspirada de oxigênio de 100%. A frequência respiratória foi ajustada de acordo a manter a pressão arterial de dióxido de carbono CO_2 (p_aCO_2) inicial entre 35 e 45 mm Hg.

3.3.2 Acesso Vascular

Na região inguinal direita, foi realizada dissecção e cateterização (com cateter de polietileno - PE240) da artéria e veia femorais. O cateter introduzido pela veia femoral direita foi posicionado na veia cava inferior para infusão de soluções anestésicas e solução salina isotônica 10 ml/kg/h durante a fase de preparação cirúrgica com a finalidade de repor a perda de volume relacionada ao ato operatório.

O cateter da artéria femoral direita foi direcionado à aorta para mensuração contínua da pressão arterial média (PAM) e para a coleta de amostras de sangue arterial.

Através de cervicotomia longitudinal anterolateral direita foi dissecada a veia jugular externa e introduzido um cateter de artéria pulmonar com fibra óptica 93A-131H-7F (*Baxter Edwards Critical Care*, Irvine, CA, EUA), cuja extremidade distal foi posicionada na artéria pulmonar, mediante a análise das curvas de pressão. Este cateter foi utilizado para mensuração da pressão média da artéria pulmonar (PMAP), pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP), pressão do átrio direito (PAD) e para a coleta de amostras do sangue venoso misto da artéria pulmonar.

O mesmo cateter foi utilizado para a determinação do débito cardíaco (DC) pelo monitor de débito cardíaco COM-2 (*Baxter Edwards Critical Care*, Irvine, CA, EUA), utilizando-se a técnica de termodiluição com aplicação de três injeções de 3ml de solução salina a 0,9%. A média de três injeções, com variação inferior a 10%, foi considerada como débito cardíaco médio.

Os cateteres introduzidos por via artéria femoral e via veia jugular externa foram conectados a transdutores de pressão (*Transpac Disposable Transducer*, Abbott, Chicago, IL, EUA) e conectados a um sistema de aquisição de dados biológicos (Modelo MP100, *Biopac Systems Inc.*, Goleta, CA, EUA) para registro contínuo da frequência cardíaca e dos traçados dos níveis pressóricos, analisados por software especifico de computador (AcqKnowledge® III MP 100 WSW, *Biopac System Inc*., Goleta, CA, EUA).

O acesso à cavidade abdominal foi obtido através de uma incisão mediana, com hemostasia realizada com bisturi elétrico e ligadura de vasos maiores com fio de algodão 2-0. Em seguida, foi realizada identificação e mobilização do baço para fora da cavidade. Neste momento, procedeu-se à ligadura dupla da artéria e veia esplênica com fio algodão 2-0 e sequencialmente realizada esplenectomia. (Figura 1)

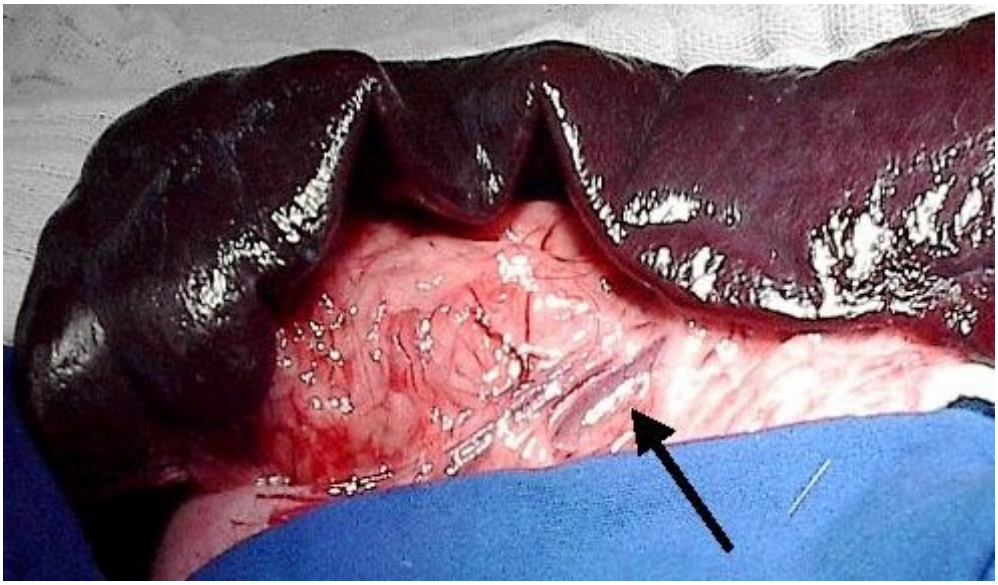


Figura 3 – Isolamento da artéria e veia esplênica indicados pela seta.

Através de uma incisão transversal na parede anterior da veia esplênica foi realizada a introdução de um cateter de polietileno multiperfurado (PE240), no interior da veia porta, permitindo coletar amostras sanguíneas.

Figura 4 – Introdução de cateter em veia porta através de veia esplênica.

Em seguida, as alças intestinais foram posicionadas do lado esquerdo do abdome, com dissecção e isolamento da artéria hepática e da veia porta, para o posicionamento de um fluxômetro ultrassônico ao redor destes vasos (T206 *small animal blood flowmeter - Transonic Systems Inc.*, Nova York - EUA), permitindo a medida contínua do fluxo sanguíneo de artéria hepática e da veia-porta (FAH e FVP, respectivamente), figuras 5 A, B e C e 6.

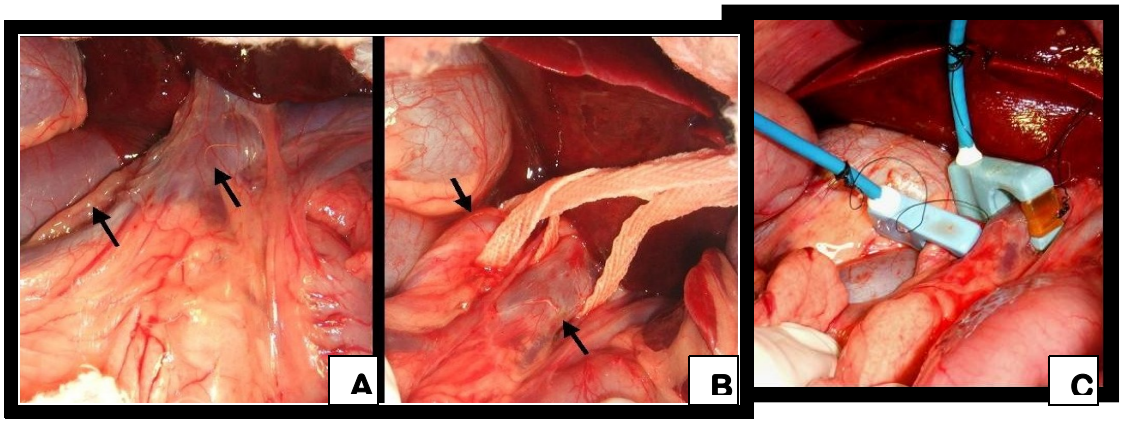


Figura 5 – A) Exposição e localização de artéria hepática e veia porta (setas). **B)** Isolamento vascular. **C)** Colocação dos fluxômetros (T206 *small animal blood flowmeter - Transonic Systems Inc.*, Nova York - EUA) ao redor da artéria hepática e veia porta.

Figura 6 – *Monitor Transonic Systems Inc.*, Nova York EUA, utilizado para mensuração contínua dos fluxos de artéria hepática e veia porta.

Através da incisão realizada em região cervical para acesso da veia jugular externa, foi introduzido cateter de polietileno (PE-240). Cuja extremidade distal foi locada na veia hepática com checagem manual do

posicionamento deste. Este cateter foi utilizado para coleta de amostras de sangue do efluente hepatoesplâncnico (veia hepática) nos diversos momentos experimentais.

3.3.3 Monitorização Cerebral

Após a finalização da cateterização para medidas hemodinâmicas sistêmicas e regionais, foi realizada a monitorização cerebral. Para introdução do cateter intracraniano, foi realizada tricotomia holocraniana e posterior remoção da pele e musculatura adjacente (Figura 7 A e B).

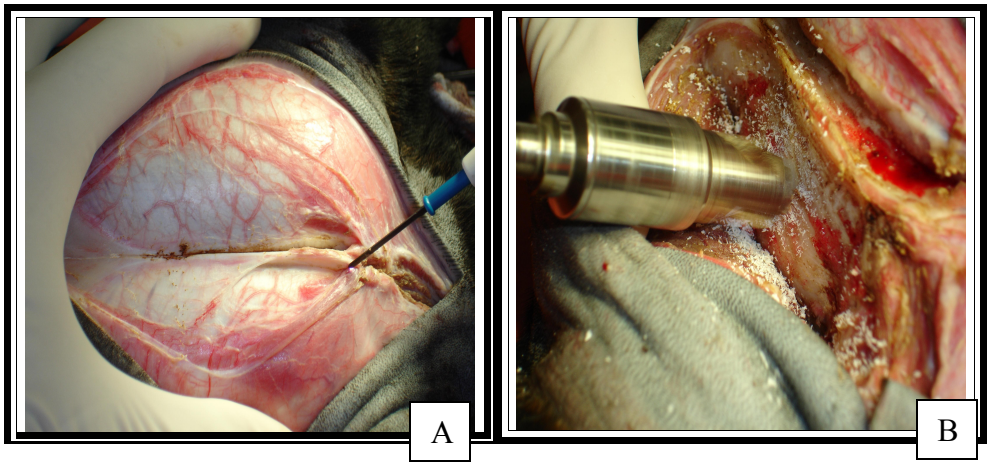


Figura 7 - A) Incisão e remoção de pele e musculatura craniana.
B) Trepanação temporal esquerda com furadeira elétrica (Black & Decker, mod S 2A e broca do tipo Mackenzie de 0,9cm).

Sequencialmente, foram realizadas três perfurações através de trepanação (temporal direita, temporal esquerda e frontal esquerda) com raio de cerca de 8mm (Figura 8); para tanto, foi utilizada furadeira elétrica (Black

& Decker, mod S 2A e broca do tipo Mackenzie de 0,9cm). Após exposição e abertura da dura mater, foram locados os cateteres (Figura 8A).

Na perfuração realizada em região temporal direita, foi posicionado o transdutor de pressão intracraniana de fibra ótica (Camino Laboratories, San Diego, Califórnia, mod. 110-4G – figura 8B), conectado a monitor (Camino Laboratories, San Diego, Califórnia, mod. V 420) para mensuração e registro contínuo da pressão intracraniana (PIC).

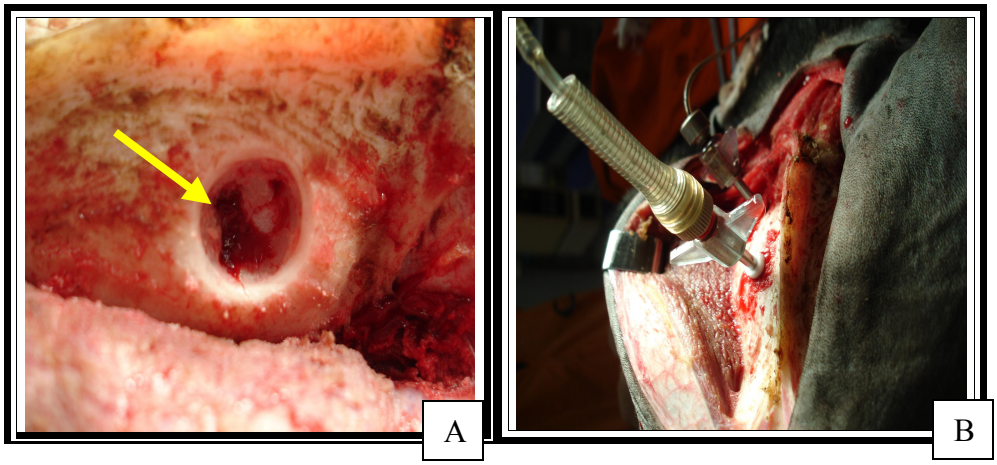


Figura 8 - A) Exposição da dura mater (seta) após trepanação. **B)** Posicionamento do introdutor do cateter de pressão intracraniana (Camino Laboratories, San Diego, Califórnia, mod. 110-4G).

A perfuração em região parieto-occipital direita foi utilizada para posicionamento de cateter, especialmente desenhado pelo grupo-pesquisador, para coleta de sangue proveniente do seio transverso cerebral (Figura 9A).

Na região temporal esquerda, foi introduzido cateter de Foley (8 French – *Foley catheter*; Kendall Co., Germany) no espaço subdural. (Figura

9B). Após a colocação do cateter, o orifício foi ocluído com cera Horsley (Ethicon), para fechamento do sistema.

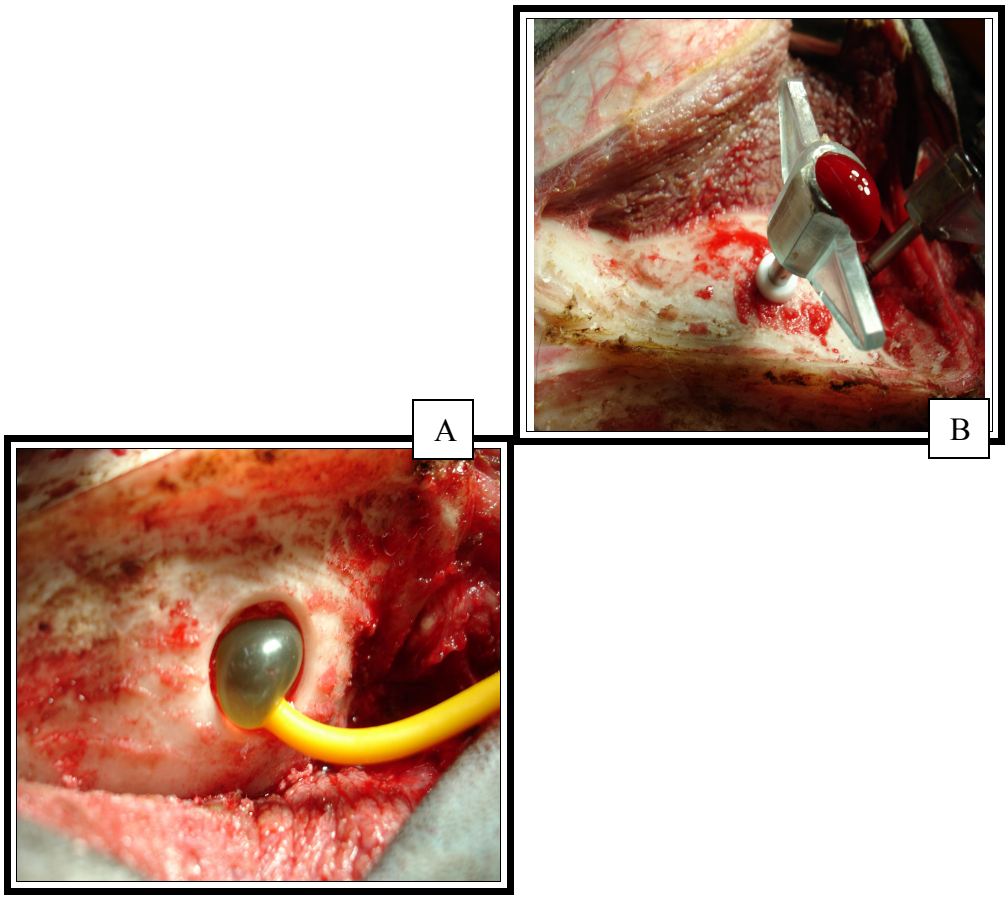


Figura 9 – A) Introdutor de cateter desenvolvido para coleta de sangue em seio transverso. **B)** Cateter de Foley locado para indução de hipertensão intracraniana entre a calota craniana e a dura mater.

3.3.4 Modelo de Morte Cerebral

3.3.4.a. Indução de Morte Cerebral

A indução de MC foi realizada através de insuflação contínua de cateter balão, descrita previamente como morte cerebral explosiva por Bittner et al. (1995), Chen et al. (1996) e Herijgers et al. (2004).

Através do cateter de Foley, foi realizado o aumento da pressão intracraniana pela insuflação progressiva de balão locado em espaço subdural com solução salina (6 – 15 ml).

Durante um período de 30 minutos, a PIC foi mantida maior que a pressão arterial sistólica (PAS), efetivando uma pressão de perfusão cerebral (PPC) menor ou igual a 0mmHg. Ao final dos 30 minutos, foram avaliados para confirmação da indução de morte cerebral: reflexos neurológicos (córneo-palpebral, pupilar e oculomotor). O teste de resposta a 1mg atropina intravenoso em *bolus* (considerado compatível com MC quando não alterada hemodinâmica) e observação de ausência de *drive* respiratório (falta de incursão respiratória após interrupção de ventilação mecânica por um período de 1 minuto), foram realizados aleatoriamente em quatro animais: dois de cada grupo para confirmação do método.

Após este período, o balão foi desinsuflado e retirado do espaço subaracnóideo, sendo colocado no espaço cola óssea para conter pequenos sangramentos e manter a superfície craniana fechada.

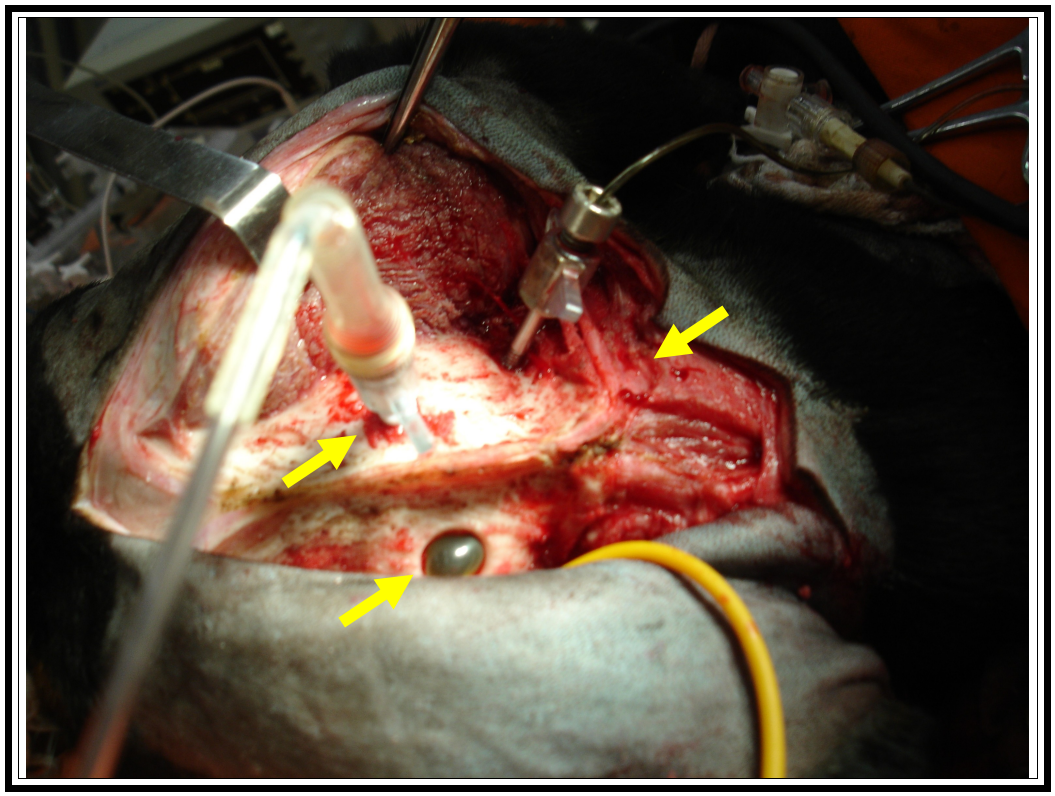


Figura 10 - Preparo final do crânio para indução de morte cerebral, com a presença de cateter de PIC (superior a esquerda), cateter para coleta de sangue do seio transverso (superior a direita) e cateter de Foley para indução da MC (abaixo) .

3.3.4.b. Período de Recuperação

Trinta minutos após o início da indução da MC, os animais foram mantidos por um período de recuperação de 30 minutos. Neste momento, os animais foram monitorados hemodinamicamente, sendo realizada a randomização dos grupos experimentais no final deste período.

3.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram randomizados em dois grupos experimentais, conforme demonstrado (tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição dos grupos experimentais.

Grupo	Solução
I (SSI) Infusão de Solução Cristaloide	Soro Fisiológico 0,9% 33 ml/kg em 30 minutos
II (HES) Infusão de Solução Coloide	HES 450/0,7 6% 17 ml/Kg em 30 minutos

As soluções infundidas no experimento são descritas na **Tabela 4**, de acordo com a composição farmacológica.

Tabela 4 – Composição das soluções utilizadas na fase de infusão volêmica.

	Na Cl	Água q.s.p	Osmolarida de teórica	Amido Hidroxietílico	PH
HES 6% **(plasmin®)** Grau substituição-0,7-0,8 Peso molecular 450.000	**9g**	**1000 ml**	**308 mOsm/l**	**60 gramas**	**5**
Solução Salina Isotônica 0,9%	**9g**	**1000 ml**	**308 mOsm/l**	**Zero**	**7,3**

A infusão das soluções foi realizada por via veia femoral em ambos os grupos através de bomba de infusão.

3.5- PARÂMETROS HEMODINÂMICOS

3.5.1- Medidas hemodinâmicas e de fluxo regional

3.5.1.a. Pressão arterial média e pressão média da artéria pulmonar

A pressão arterial média (PAM) e pressão média da artéria pulmonar (PMAP) foram medidas continuamente, sendo seu valor expresso em mmHg.

3.5.1.b. Pressão de oclusão da artéria pulmonar

As pressões de oclusão da artéria pulmonar (POAP) foram medidas nos diversos momentos experimentais, sendo os seus valores expressos em mmHg.

3.5.1.c. Fluxo da artéria hepática e da veia porta

O fluxo da artéria hepática (FAH) e o fluxo da veia-porta (FVP), foram obtidos de maneira contínua através do posicionamento do

fluxômetro ultrassônico, ao redor destes vasos sendo os valores expressos em ml/min.

3.5.2. Débito cardíaco

O débito cardíaco (DC) foi obtido por meio da técnica de termo diluição, computado em monitor de débito cardíaco (COM-2 American Edwards Baxter - EUA). Cada registro resultou da média aritmética de duas ou três medidas consecutivas, com variação menor que 10% entre si, expressos em L/min.

3.5.3. Resistência Vascular Sistêmica e Pulmonar

A resistência vascular sistêmica e pulmonar (RVS e RVP) foi calculada pela diferença entre a PAM e a PAD, e a PMAP e a POAP, respectivamente, divididos pelo débito cardíaco e representados em **dinas**.seg/**cm**^{5}/**m**^{2}.

RVS = (PAM – PAD) / DC

RVP = (PMAP– POAP) / DC

3.6- <u>MEDIDAS DE TRANSPORTE DE OXIGÊNIO</u>

O conteúdo de oxigênio arterial (C_aO_2), sangue venoso misto (C_vO_2), veia hepática (C_hO_2), portal (C_pO_2) e cerebral (C_cO_2) foram obtidos pelas taxas de hemoglobina arterial (Hb_a), venosa mista (Hb_v), veia hepática (Hb_h), veia porta (Hb_p), seio transverso cerebral (Hb_c);, das saturações de oxigênio arterial (S_aO_2), venosa mista (S_vO_2), hepática (S_hO_2), veia porta (S_pO_2) e cerebral (S_cO_2), e da pressão parcial de oxigênio nos sangues arterial, venoso misto, veia hepática, veia porta e cerebral (p_aO_2, p_vO_2, p_hO_2, p_pO_2, p_cO_2, respectivamente), utilizando as fórmulas padrões.

$$\mathbf{C_aO_2 = (Hb_a \times S_aO_2 \times 1{,}34) + (P_aO_2 \times 0{,}0031)}$$

$$\mathbf{C_pO_2 = (Hb_p \times S_pO_2 \times 1{,}34) + (P_pO_2 \times 0{,}0031)}$$

$$\mathbf{C_vO_2 = (Hb_v \times S_vO_2 \times 1{,}34) + (P_vO_2 \times 0{,}0031)}$$

$$\mathbf{C_hO2 = (Hb_h \times S_hO2 \times 1{,}34) + (P_hO2 \times 0{,}0031)}$$

$$\mathbf{C_cO2 = (Hb_c \times S_cO2 \times 1{,}34) + (P_cO2 \times 0{,}0031)}$$

3.6.1- Oferta sistêmica, hepática e esplâncnica de oxigênio

A oferta sistêmica, hepática e esplâncnica de oxigênio, respectivamente: DO_2sist, DO_2hepat e DO_2esplanc, expressas em $ml.min^{-1}$, foram calculadas a partir do débito cardíaco (DC) e do conteúdo de oxigênio

arterial, veia hepática e veia porta (C_aO^2 , C_hO^2, C_pO^2), mediante as fórmulas expressas abaixo.

DO_2sist = DC x CaO_2

DO_2hepat = (FAH x CaO_2) + (FVP x CpO_2)

DO_2esplanc = FVP x CaO_2

3.6.2. Consumo sistêmico, hepático e esplâncnico de oxigênio

O consumo de oxigênio sistêmico, hepático e esplâncnico, respectivamente: VO_2sist, VO_2hepat e VO_2esplanc expressos em ml.min^{-1}, foram obtidos a partir das fórmulas expressas abaixo.

VO_2sist = DC x (CaO_2 – CvO_2)

VO_2hepat = Do_2hepat-[(FVP+FAH) x ChO_2]

VO_2esplanc = FVP x (CaO_2-CpO_2)

3.6.3. Taxa de extração sistêmica e esplâncnica de oxigênio

As taxas de extração sistêmica, hepática e esplâncnica de oxigênio (TEO_2sist, TEO_2hepat, TEO_2esplanc), respectivamente, foram expressas em percentagem (%) e foram obtidas a partir de conteúdo de oxigênio no sangue arterial, venoso, hepático e portal (C_aO^2, C_vO^2, C_hO^2, C_pO^2) mediante fórmulas, expressas abaixo:

$TEO_2sist = (CaO_2-CvO_2)/CaO_2 \times 100$

$TEO_2hepat = DO_2\ hepat-[FAHxC_hO_2]$

$TEO_2esplanc = (CaO_2-C_pO_2)/CaO_2x100$

3.7- VARIÁVEIS LABORATORIAIS

Dados gasométricos (pH, pO_2, pCO_2, BE, HCO_3, saturação de oxigênio) e laboratoriais (Hb,Ht, sódio, potássio, glicose e lactato) foram obtidos no sangue coletado através dos cateteres posicionados em artéria pulmonar, aorta, seio transverso cerebral, veia hepática e veia porta, e avaliados imediatamente após coleta, através do analisador de gases sanguíneos Stat-Profile Ultra-C (Nova Biomedical, Walthan, MA – EUA).

Nos momentos experimentais, amostras de sangue arterial foram colhidas (Figura 11) e refrigeradas entre 8 e 4°C, para posterior avaliação em laboratório central de albumina, creatinofosfoquinase (CPK), transaminases (ALT e AST) e creatinina, utilizado para análise aparelho Cobas Mira Plus CC (Roche CH 6343, Rotkreuz-Switzerland).

3.8-ANÁLISE HISTOLÓGICA

No final do experimento antes do sacrifício dos animais, foram colhidas amostras do pulmão, fígado, intestino (íleo terminal) e rim para posterior análise histológica. Amostras de encéfalo foram retiradas em três animais para ilustração do dano cerebral promovido pelo modelo MC.

Os fragmentos foram fixados em formalina, desidratados e fixados em blocos de parafina submetidos à microtomia (4µm) e corados em hematoxilina e eosina. As lâminas foram analisadas por microscopia óptica por um observador (médico patologista) sem conhecimento prévio dos grupos experimentais, para avaliação das possíveis diferenças histológicas entre os grupos.

Para análise das variações anatomopatológicas avaliadas por microscopia, foi adotada a presença ou ausência de alterações promovidas por baixa perfusão tecidual.

Sendo consideradas alteradas as lâminas de pulmão, fígado e intestino que continham o seguinte diagnóstico: congestão, focos hemorrágicos e necrose. No rim, foi considerada além de necrose tubular aguda, nefrite intersticial e dilatação glomerular.

3.9- PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Medidas hemodinâmicas de PAM, PMAP e FC foram realizadas minuto a minuto durante todo o experimento. Outras variáveis hemodinâmicas (POAP, FVP, DC, FAH) foram realizadas nos momentos experimentais abaixo determinados (Figura 11):

- **BL –** Medida basal;
- **HIC5 –** 5 minutos após o início da indução da MC;
- **HIC30 –** 30 minutos após o início da indução da MC.
- **MC60 –** 60 minutos após início da indução da MC (30 minutos após final da indução da MC e imediatamente antes do início da fase de infusão volêmica);
- **R30, R120 e R180 –** 30, 120 e 180 minutos após o início de infusão volêmica;
- **FINAL DO EXPERIMENTO** - Após 240 minutos do início da indução da MC, os animais foram sacrificados com injeção de 40mg/Kg de peso de pentobarbital, seguida de 40 ml de solução de cloreto de potássio 19,1%, através do cateter posicionado no interior da veia cava inferior.

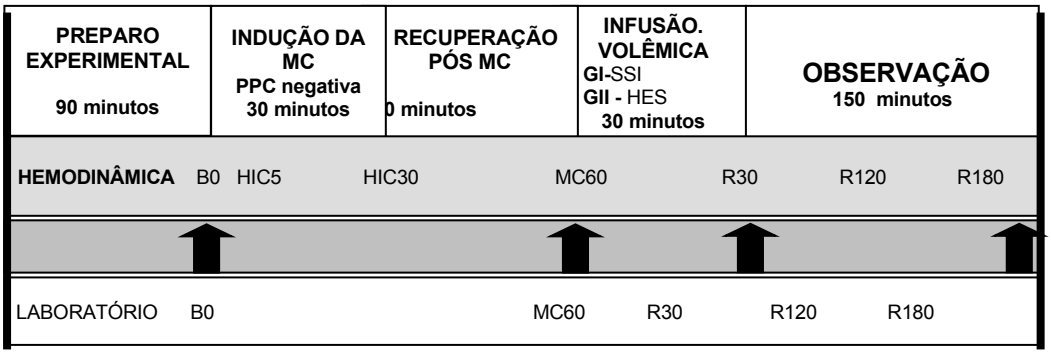


Figura 11 – Protocolo experimental. Na faixa cinza, estão representados os momentos em que foram realizadas as medidas hemodinâmicas. Na faixa branca, estão representados os momentos de colheita das amostras de sangue (**LABORATÓRIO**). As setas demarcam o início da indução de MC, início e final da infusão volêmica e o tempo final de observação.

3.10- MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (média±EPM). Foi aplicado Teste de Friedman para comparação das variáveis e possíveis diferenças concomitantes entre os momentos experimentais. Após esta análise, os tempos experimentais que demonstraram diferença estatística (nível de significância de 5% - $p \leq 0,05$) foram submetidos ao Teste de Postos Sinalizados de Wilcoxon com mesmo nível de significância para comparação direta entre os grupos e os tempos preestabelecidos. Foi utilizado programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) em sua versão 13.0 para obtenção dos resultados.

A análise estatística foi realizada com comparação entre os tempos experimentais BL versus HIC5, HIC30 e MC60, e entre MC60 versus os demais tempos pós-infusão volêmica (R30, R120, R180). Também foi

analisada a relação entre os grupos SSI e HES, sendo utilizado $p \leq 0,05$ para significância estatística.

4. RESULTADOS

O valor médio e erro-padrão da média de cada grupo (média ± EPM) estão apresentados em gráficos (Figuras 12 **a** 21) **e tabelas (**Tabelas 5 **a** 8**). Os valores individuais de cada animal, em cada momento do experimento, estão dispostos em tabelas no item** Anexos**.**

O peso dos animais variou entre 15,2 e 25 kg, não havendo diferença estatisticamente significante entre os grupos SSI (19,2±3,4 Kg) e HES (20,5±3,5 Kg, p=0,24). Os valores individuais do peso de cada animal encontram-se a**nexos**.

4.1- VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS

Durante a fase de preparo, não houve diferença entre os grupos quanto à reposição de perdas volêmicas nos grupos SSI e HES (287,4±17,1 ml e 308,6±17,5 ml; respectivamente).

Houve diferença significativa no volume de solução infundida no período de reposição volêmica entre os grupos SSI e HES, p=0,001 (**Figura 12**).

Figura 12– Volume total administrado no período de infusão volêmica (MC60 até R30), nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES), medido em mililitros. $^{c}p \leq 0{,}05$ *vs*.SSI.

A indução da morte cerebral promoveu significativas e imediatas alterações hemodinâmicas (**Figuras 13 a 18**). A insuflação do balão subdural promoveu uma sustentada elevação da PIC, demonstrada na Tabela 5, com diferença estatística nos tempos HIC 5 e HIC 30 *versus* o BL.

A pressão de perfusão cerebral (PPC) apresentou uma abrupta redução em ambos os grupos no momento HIC5, permanecendo negativa na fase de indução, sem diferença entre os grupos durante todo o protocolo experimental. Após a indução,

apesar de tornar-se positiva novamente, a PPC permaneceu inferior à 50mmHg, em ambos os grupos experimentais. (**Figura 13**).

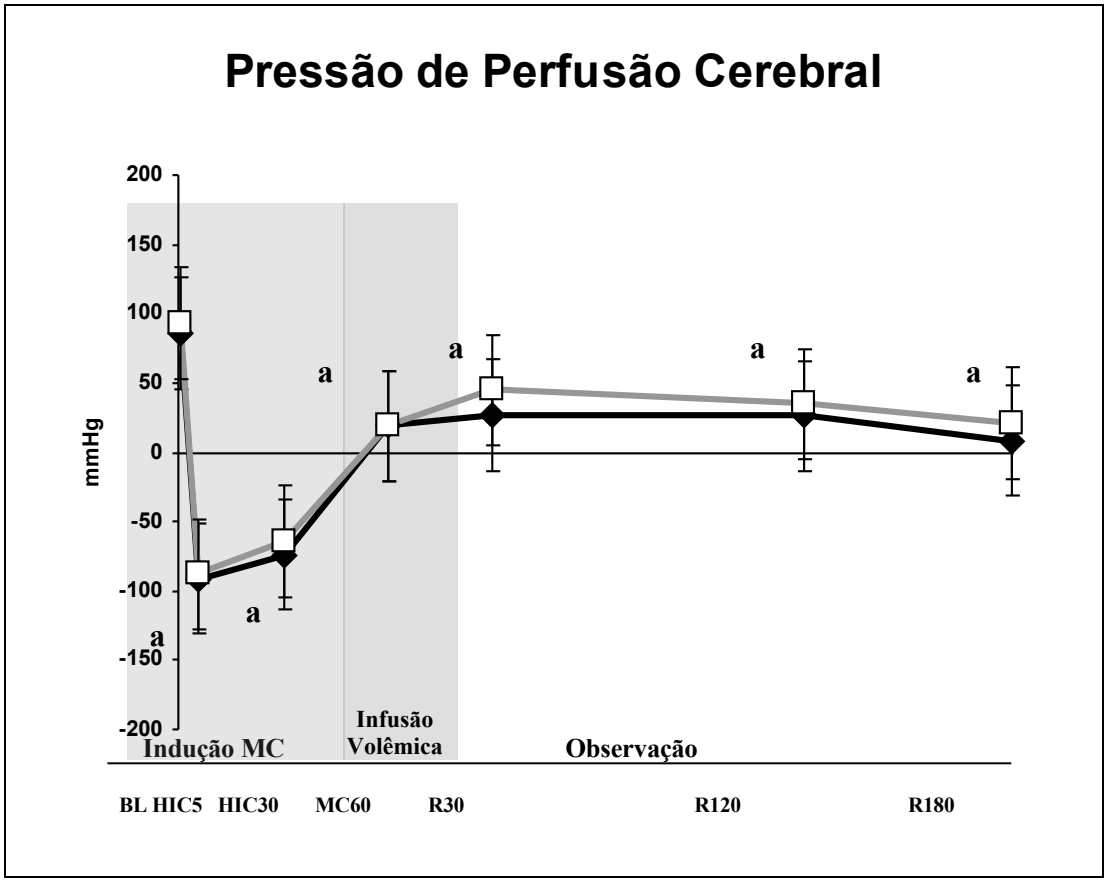


Figura 13 – Evolução da pressão de perfusão cerebral durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES) medida em mmHg. ***Legendas:*** medida basal (BL), 5 e 30 minutos após início de indução de hipertensão intracraniana (HIC5 e HIC 30), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após o início da fase de infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a]$p \leq 0,05$ *vs.* BL em ambos os grupos.

A indução da morte cerebral resultou em um expressivo aumento da PAM (de até 88%), seguido de hipotensão em ambos os grupos. A expansão volêmica com HES promoveu um aumento transitório, mas significativo desta variável no momento R30 em ambos os grupos.

Após o início da reposição volêmica, observou-se um aumento significativo da PAM em ambos os grupos experimentais, quando comparado ao momento MC60. Apesar de não significativo, um aumento mais pronunciado da PAM foi observado nos animais que receberam a solução de hidroxietilamido (74,1±10,8 mmHg *vs.* 53,2±4,2 mmHg em R120; p=0,06).

Ao final do protocolo experimental, os níveis de PAM foram significativamente inferiores ao BL, porém sem diferença estatística entre os grupos. (**Figura 14**).

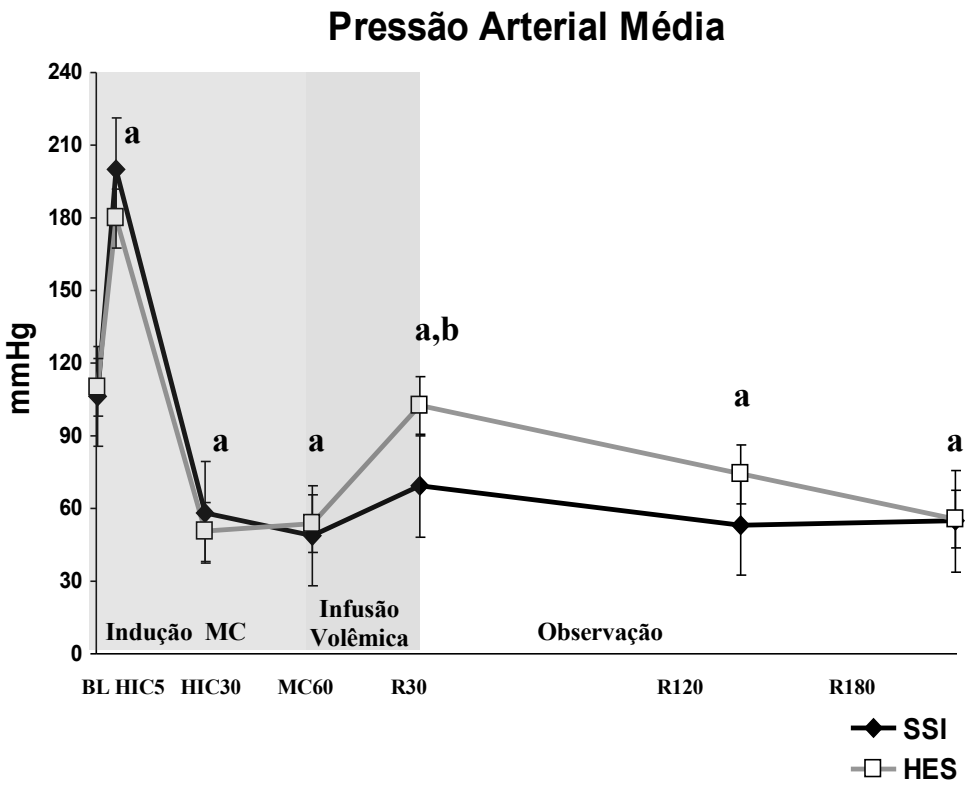


Figura 14 – Evolução da média da pressão arterial (PAM) durante o experimento nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES), medida em mmHg. ***Legendas:*** medida basal (BL), 5 e 30 minutos após início de indução de hipertensão intracraniana (HIC5 e HIC 30), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após o início da fase de infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a]$p \leq 0,05$ *vs.* BL em ambos os grupos e [b]$p \leq 0,05$ *vs*. MC60, em ambos os grupos.

Um aumento significativo das pressões médias da artéria pulmonar e de oclusão da artéria pulmonar (PMAP e POAP) foi observado no momento inicial da indução da MC.

A expansão volêmica promoveu no tempo R30 um aumento significativo da PMAP e da POAP do grupo HES em relação ao BL e ao tempo MC60, enquanto o grupo SSI apresentou diferença significativa da PMAP em R30 *versus* o BL e a POAP em R30 *versus* MC60. No entanto, esse aumento foi transitório não sustentando diferença nos seguintes tempos (R120 e R180), quando comparados ao BL e a MC60. (**Tabela 5**)

O súbito aumento da PIC resultou em uma bradicardia intensa e fugaz no primeiro minuto após a indução MC, com posterior recuperação dos níveis basais que se mantiveram durante todo o protocolo experimental.

Em relação ao débito cardíaco, observou-se uma elevação não significativa durante a indução da morte cerebral (HIC5) e posterior estabilização no momento MC60. Animais do grupo HES o débito cardíaco apresentaram uma tendência de aumento em relação ao grupo SSI (5,01±0,5 mmHg *vs.* 3,41±0,5 mmHg no tempo R30 com p=0,06).

Ao final do experimento, ambos os grupos apresentaram valores de DC próximos ao BL, não exibindo diferença estatística entre eles (**Figura 15**).

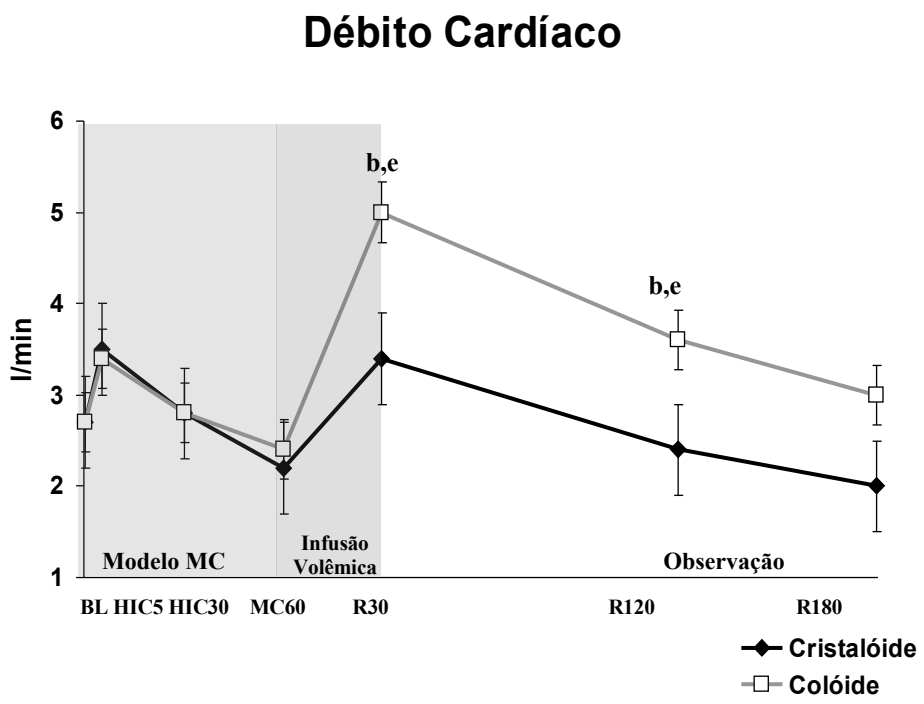


Figura 15- Evolução das medidas do débito cardíaco (DC), em l/min durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES), medida em l/min. ***Legendas:*** medida basal (BL), 5 e 30 minutos após início de indução de hipertensão intracraniana (HIC5 e HIC 30), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após o início da fase de infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média, $^{b}p \leq 0{,}05$ *vs*. MC60,em ambos os grupos e $^{e}p \leq 0{,}05$ *vs.* BL-HES.

Foi observado um aumento significativo, mas transitório, do fluxo regional no início da indução da MC. Em HIC5, os aumentos médios dos fluxos da artéria hepática foram de 90 e 52%, nos grupos SSI e HES (p=0,028 e p=0,018 respectivamente).

O aumento do fluxo da veia porta no momento HIC5 (13 e 37% *vs.* BL para SSI e HES, respectivamente), não foi pronunciado quando comparado ao aumento observado no fluxo arterial; no entanto, também apresentou diferença estatisticamente significativa, respectivamente (p= 0,043 *e* p= 0,018*)*.

Uma hora após a indução da morte encefálica, o fluxo arterial hepático e portal, em ambos os grupos, apresentaram uma redução não significativa quando comparados ao momento basal (**Figura 16**).

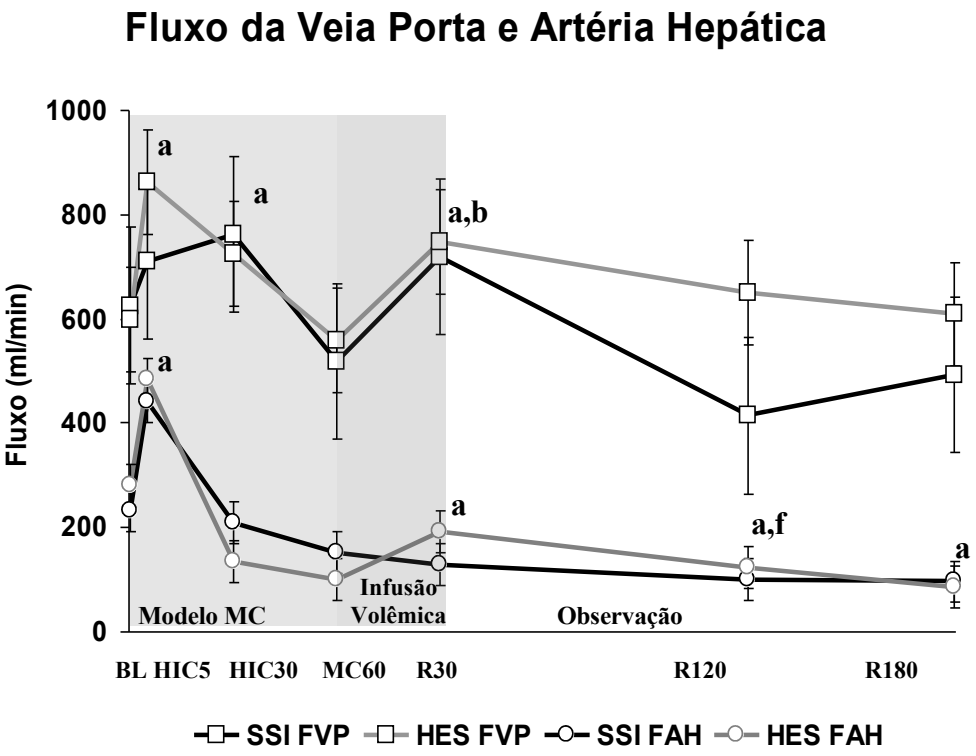


Figura 16 - Evolução dos fluxos de sangue na veia porta e da artéria hepática durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES), medida em ml/min. ***Legendas:*** medida basal (BL), 5 e 30 minutos após início de indução de hipertensão intracraniana (HIC5 e HIC 30), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após o início da fase de infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. $^{a}p \leq 0{,}05$ *vs.* BL em ambos os grupos e $^{b}p \leq 0{,}05$ *vs*. MC60 em ambos os grupos $^{f}p \leq 0{,}05$ vs.SSI-MC60.

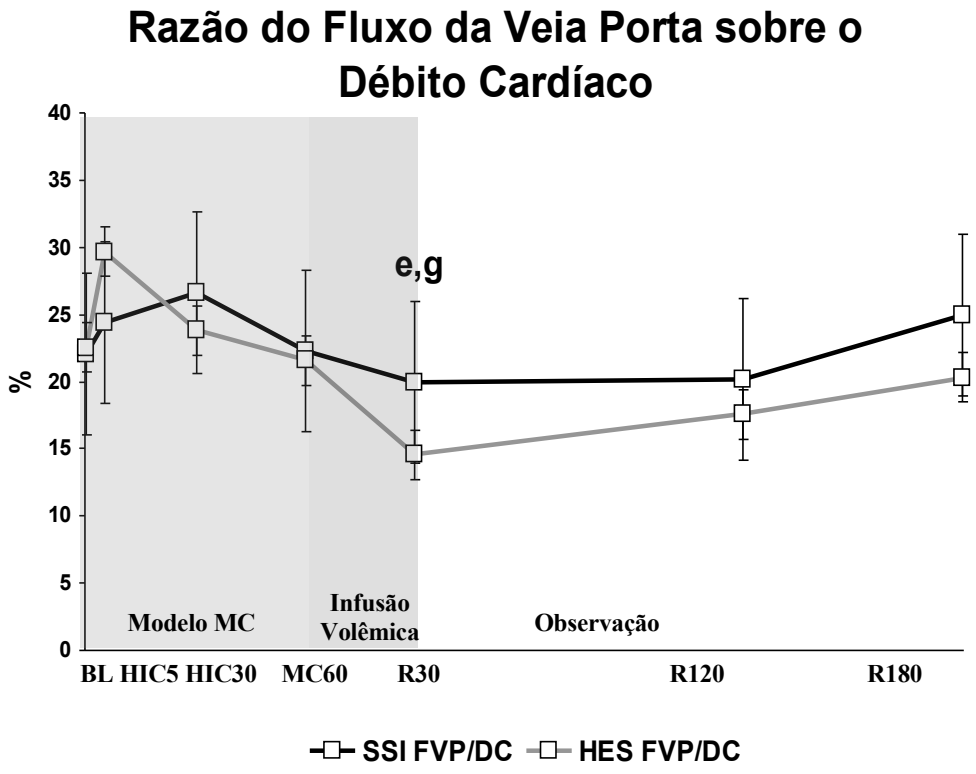


Figura 17 - Evolução dos fluxos de sangue na veia porta sobre o débito cardíaco durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES), medida em ml/min. ***Legendas:*** medida basal (BL), 5 e 30 minutos após início de indução de hipertensão intracraniana (HIC5 e HIC 30), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após o início da fase de infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. $^{e}p \leq 0,05$ *vs.* BL -HES e $^{g}p \leq 0,05$ *vs*. MC60 -HES.

A relação FVP/DC apresentou aumento discreto, não significativo em ambos os grupos, após início da indução do modelo de MC, evoluindo com redução acentuada no período R30 no grupo HES; apresentando diferença significativa em relação aos tempos BL e MC60. (**Figura 17**)

Já na evolução da relação entre o fluxo da artéria hepática sobre a DC, observou-se uma queda mais acentuada com predomínio de redução no grupo HES, com diferença significativa neste grupo, no período MC60 *versus* o BL e nos períodos

de observação (R30, R120 e R180) comparados ao BL; no grupo SSI, a redução ocorreu também no período de reposição volêmica, porém sem diferença estatística entre os tempos MC60 e BL.

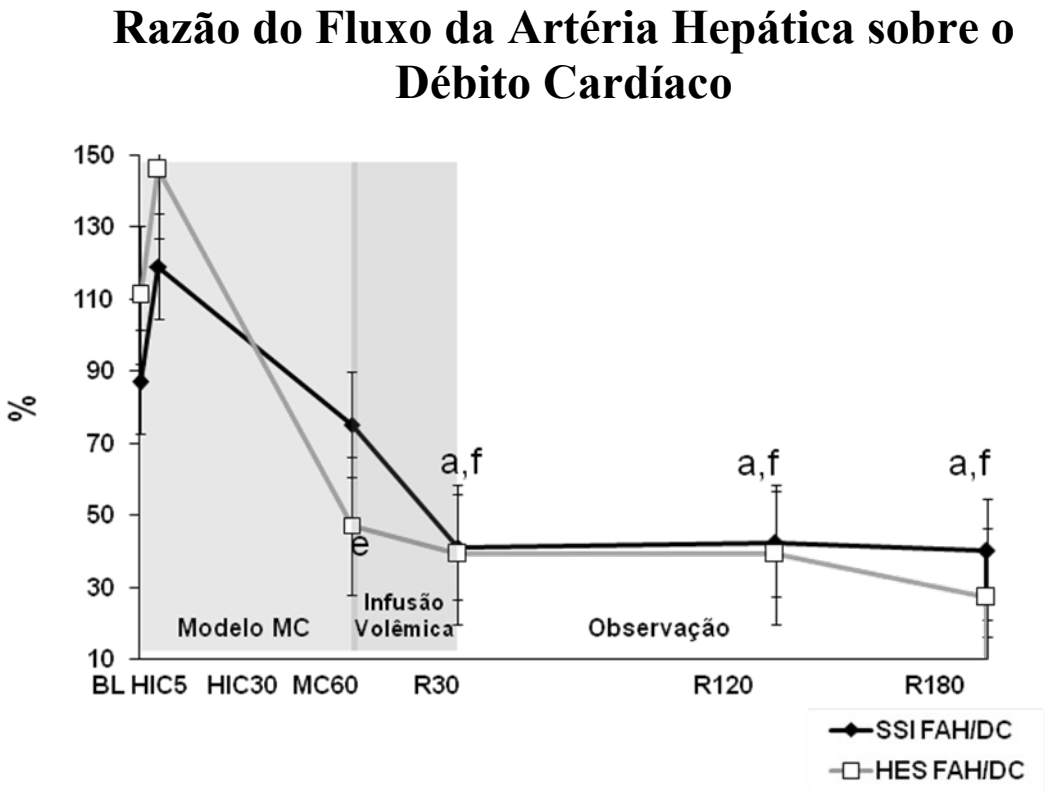


Figura 18 - Evolução dos fluxos de sangue na artéria hepática sobre o débito cardíaco durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES), medida em ml/min. ***Legendas:*** medida basal (BL), 5 e 30 minutos após início de indução de hipertensão intracraniana (HIC5 e HIC 30), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após o início da fase de infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a]$p \leq 0,05$ *vs.* BL em ambos os grupos, [e]$p \leq 0,05$ *vs.* BL –HES, [f]$p \leq 0,05$ vs.SSI-MC60.

A resistência vascular sistêmica apresentou uma redução significativa no momento HIC5 com posterior aumento significativo em MC60 (**Tabela 5**). Durante a fase de expansão volêmica ocorreu nova redução da RVS nos quando comparados com o BL.

A pressão intracraniana apresentou significativo no tempo HIC, com queda acentuada em MC60 e discreta variação nos períodos após a indução da morte cerebral. Ocorreu diferença significativa da PIC no momento R30, entre os grupos, com aumento médio de 50% do HES em relação SSI.

Não foram observadas alterações significativas da PMAP, POAP, resistência vascular pulmonar, frequência cardíaca e temperatura corpórea entre os grupos experimentais após a indução de morte cerebral (de MC60 a R180, **Tabela 5**).

Apesar de não apresentar diferença estatística entre os grupos, a POAP apresentou um aumento significativo no grupo HES no momento R30, quando comparado ao momento basal (**Tabela 5**).

Tabela 5 - Variação das médias dos parâmetros hemodinâmicos pressão intracraniana (PIC), pressão média da artéria pulmonar (PMAP), pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP), resistência vascular sistêmica (RVS), resistência vascular pulmonar (RVP), frequência cardíaca (FC) e temperatura corpórea nos tempos experimentais em ambos os grupos [baseline (BL), hipertensão craniana aos 5 e 30 minutos (HIC5 e HIC 30), morte cerebral- 60 minutos após início da indução (MC60), reposição volêmica com 30 minutos (R30), reposição volêmica com 120 minutos (R120) e reposição volêmica com 180 minutos (R180).

	GRUPO	BL	HIC5	HIC30	MC60	R30	R120	R180
PIC *(mmHg)*	SSI	19,6±5,8	292,2±24[a]	121±12,8 [a]	29±3,7[a]	41,7±7,1[b]	39,1±4,9 [b]	46,3±8,1 [a]
	HES	16±2,4	266,2±23[a]	143±18 [a]	34,2±5,7 [a]	60,7±9,6 [a,b,c]	55±11,5 [a,b]	41,5±6,9 [a]
PMAP (*mmHg)*	SSI	14±2,3	19,6±3 [a]	13,5±2,7	15,9±1,8	18,1±3 [a]	16,5±2,4	12,67±1,4
	HES	14,2±1,5	24,5±3,4 [a]	17,9±3,3	14,8±1,5	22,1±2,4 [a , b]	14,3±1,5	18,1±2,9
POAP (*mmHg)*	SSI	4±1,5	13,1±4,8 [a]	6,4±2,5	4,1±0,7	6±0,3[b]	5,8±0,7	6,5±0,3
	HES	4,1±1,3	13,6±3,8 [a]	7,2±2,2 [a]	6,1±1,7	10,3±2[a,b]	5,6±0,9	6,4±0,8
RVS (dyn/s/cm^{-5}*)*	SSI	3380±460	1977±658 [a]	2120,9±489 [a]	4955±‡234 [a]	1813±312 [a]	2353±538 [a]	2530±1211
	HES	3487±419	2327±1018	1717,3±613 [a]	5140±‡497 [a]	1903±455 [a]	1933±412 [a]	1707±280 [a]
RVP (dyn/s/cm^{-5}*)*	SSI	395±68,8	315,8±103	325,82±77	415,3±60,5	227,1±‡23,9	349,5±78,4	213±23,9
	HES	303,1±16,6	261,4±40	368,2±64	355,5±73,6	198,3±19,8	220,7±21,1	364,1±50,6
FC*(bpm)*	SSI	150±7,8	133,3±20,4	151,1±7,7	151±6,9	143,3±9,2	122,1±7,51111	101,3±4,8[a]
	HES	141,6±9	112,1±20,8	126,6±11,9	126,6±11,9	119,3±8,8	18,6±11,6	121,9±11,7
Temperatura Corpórea (^{0}C*)*	SSI	36,1±0,6	36,2±0,8	36,4±0,7	36,4±0,7	36±0,8	36,3±0,8	36±0,6
	HES	35,9±0,8	36±0,9	36,2±0,9	36,2±,0,8	35,9±0,7	36,4±0,7	36,7±0,7

Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a]$p \leq 0,05$ *vs.* BL,, [b]$p \leq 0,05$ *vs.* MC60 e [c]$p \leq 0,05$ *vs.* SSI .

4.2- Variáveis Laboratoriais e Variáveis Dependentes de Oxigênio

Após a indução da morte encefálica (MC60), observou-se redução significativa na oferta de oxigênio sistêmica, esplâncnica e hepática (27%, 10% e 33%, respectivamente). Concomitantemente ocorreu um aumento proporcional, mas não significativo da taxa de extração de oxigênio sistêmico e regional (TEO_2sist, TEO_2hepat e TEO_2esplanc).

Não foram reparadas alterações significativas em relação ao consumo de oxigênio sistêmico, esplâncnico e hepático durante todo o protocolo experimental (**Tabela 6**).

A infusão volêmica com solução salina isotônica ou hidroxietilamido proporcionou aumento significativo da oferta sistêmica e regional de oxigênio em ambos os grupos estudados. A infusão do HES proporcionou um aumento mais pronunciado da oferta de oxigênio sistêmica e hepática no momento R30 quando comparado ao outro grupo experimental (**Tabela 6**).

Tabela 6- Variação das médias de oferta, consumo e taxa de extração de oxigênio nos territórios (sistêmico, esplâncnico e hepático), respectivamente DO_2sist, DO_2esplanc, DO_2hepat, VO_2sist, VO_2esplanc, VO_2hepat, TEO_2sist, TEO_2esplanc e TEO_2hepat nos momentos experimentais, EM ambos os grupos [baseline (BL), morte cerebral- 60 minutos após início da indução (MC60), reposição volêmica com 30 minutos (R30), reposição volêmica com 120 minutos (R120) e reposição volêmica com 180 minutos(R180)].

Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a] $p \leq 0,05$ *vs.* BL, [b] $p \leq 0,05$ *vs.* MC60 e [c] $p \leq 0,05$ *vs* solução salina isotônica *(*SSI).

	GRUPOS	BL	MC60	R30	R120	R180
Sistêmico						
DO_2sist *(ml/min)*	SSI	471,2±62,2	308,5±17,8[a]	447,1±69,5	347,3±69,9[a]	316,9±84,7
	HES	460,4±86,4	372,1±55,3	637,6±81,2[a b c]	474,2±86,3	380,6±80
VO_2sist *(ml/min)*	SSI	108,8±22,3	81,4±7,9	81,7±9,2	64,6±12,3	65,1±10,1
	HES	96,7±14,5	84,7±7,1	112,3±16,4	91,9±7,6	70,7±13,4
TEO_2sist *(%)*	SSI	18,31±2,6	25,7±4,6[a]	18,5±2,9[b]	20,5±5[b]	21,4±2,4
	HES	19,6±1,9	24,0±5,2	16,9±2,9	21,8±5	20,7±5,9
Esplâncnico						
DO_2esplanc *(ml/min)*	SSI	109,8±19,9	83,8±19,9[a]	94,1±24	68,5±15,.9[a]	79,7±16,7
	HES	110±21,9	94,8±26,2[a]	104,1±24,3[a]	96,8±24,5[a]	89,1±24,1[a]
VO_2esplanc *(ml/min)*	SSI	11,5±1,6	13,4±2,7	8,9±2,32[a]	10,5±1,9	14,1±3,2
	HES	16,4±3,6	16,1±2,5	9,7±1,9	15,35±3.5	8,8±3,6[b]
TEO_2esplanc *(%)*	SSI	14,9±2,5	18,9±4,1	13,3±0,3	17,3±3	17,5±1,1
	HES	15,4±1,7	22,6±4,6	15,3±5,5[b]	19,8±4	12±2,9
Hepático						
DO_2hepat *(ml/min)*	SSI	140±23	96,8±20,2[a]	109,7±26,7[a c]	65,6±17,6[a]	83,2±19,6
	HES	145±19	96±25,7[a]	121,4±23,7[b,c]	98,9±23,8[a]	94,1±23,3[a]
VO_2hepat *(ml/min)*	SSI	11,3±1,9	21,3±3	40,3±18,3	13,5±2,5	6±0,8
	HES	27,4±5,8	31,2±12,7	24,6±6,7	25,7±11,3	41,5±15
TEO_2hepat *(%)*	SSI	12,1±3,2	33,1±7,5	27,3±5	25,9±6,9	8,5±1,2
	HES	19,3±3	30,1±7,2	21,9±6,1	27,1±6,1	34,7±7,8

A indução da morte cerebral levou a decréscimo significativo do pH arterial em ambos os grupos experimentais e a um aumento significativo da pressão parcial de dióxido de carbono arterial pCO_2 (**Tabela 7**). Os níveis de lactato (sistêmico e

regional), HCO_3 e excesso de base não apresentaram alterações significativas após a indução da morte cerebral (MC60, **Tabela 7**). Não houve diferença significativa em relação a estes parâmetros laboratoriais, entre os dois grupos estudados após o início da reposição volêmica (**Tabela 7**). A S_VO_2 apresentou discretas oscilações durante todo experimento, destacando-se a redução inicial, após indução da morte cerebral, com média de 7 e 8% em relação à coleta basal, no entanto, sem caracterizar diferença estatística (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Variação das médias dos parâmetros gasométricos pH arterial, saturação venosa de oxigênio (S_VO_2), pressão arterial de gás carbônico (pCO_2), lactato arterial, excesso de base arterial (BE) e bicarbonato de sódio (HCO_3) nos momentos experimentais [baseline (BL), morte cerebral- 60 minutos após início da indução (MC60), reposição volêmica com 30 minutos (R30), reposição volêmica com 120 minutos (R120) e reposição volêmica com 180 minutos(R180)].
Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a] $p \leq 0,05$ *vs.* BL.

	GRUPO	BL	MC60	R30	R120	R180
pH arterial (unidades)	SSI	7,36±0	7,23±0[a]	7,25±0[a]	7,24±0	7,26±0
	HES	7,41±0	7,23±0,1	7,24±0,1	7,24±0,1	7,21±0
SVO_2	SSI	85,5±3,6	79,3±6,9	86,2±5,1	83,3±6,6	67,1±6,3
	HES	88,9±1,5	82,9±5,3	92,3±2,4	86,3±5,2	84,5±5,2
PCO_2arterial	SSI	41,6±2,3	57,1±4,8[a]	54,9±5,5[a]	60±6,9[a]	56,7±9,1
(mmHg)	**HES**	42,4±4,6	63±7,8[a]	60,3±8,8[a]	63,9±8,3[a]	64,9±8,9[a]
Lactato arterial	SSI	0,6±0,3	1,2±0,5	0,7±0,4	0±0	0±0
(mmol/l)	**HES**	1±0,6	1,6±0,9	0,9±0,6	0,5±0,7	0,5±0,7
BE arterial	SSI	-1,16±1	-3,53±0,8	-3,33±1,1	-2,87±0,6	-2,43±1
(mEq/l)	**HES**	-0,33±0,7	-3,9±1,3	-5,3±1,2	-3,15±1	-4,25±1
HCO3	SSI	24,39±1	24,29±0,9	24,57±0,9	24,96±0,8	25±1,6
(mEq/l)	**HES**	24,83±1,1	24,05±1,1	22,45±0,7	24,53±0,7	23,83±1

Os níveis glicêmicos apresentaram elevação após a indução de MC. Esta variação foi transitória e apresentou normalização durante a evolução do experimento. Observou-se uma redução significativa da hemoglobina arterial sem diferença significativa entre os dois grupos experimentais (**Tabela 8**).

Houve um aumento progressivo e sustentado da CPK em ambos os grupos experimentais. Não houve redução dos níveis deste metabólito após a infusão da solução salina isotônica ou do hidroxetilamido (**Tabela 8**).

Tabela 8 - Variação das médias dos parâmetros laboratoriais do sangue arterial de hemoglobina (Hb arterial), creatinina, glicose arterial, creatinofosfoquinase (CPK), alanino transaminase (ALT) e sódio nos momentos experimentais em ambos os grupos. [baseline (BL), morte cerebral- 60 minutos após início da indução (MC60), reposição volêmica com 30 minutos (R30), reposição volêmica com 120 minutos (R120) e reposição volêmica com 180 minutos(R180)].
Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [a] $p \leq 0,05$ *vs.* BL, [b] $p \leq 0,05$ *vs.* MC60.

	GRUPO	BL	MC60	R30	R120	R180
Hb arterial (mg/dl)	SSI	13,2±0,9	12,1±0,9[a]	10,2±1 [a b]	11±1 [a b]	10,9±0,9 [a b]
	HES	12,5±0,8	11,8±0,8 [a]	9,5±0,5 [a b]	9,7±0,8 [a b]	9,3±1 [a b]
Creatinina (mg/dl)	SSI	0,76±0,1	0,82±0	0,78±0,1	0,9±0,1	0,83±0,1
	HES	0,69±0	0,82±0,1	0,78±0,1	0,77±0,1	0,92±0,2
Glicose Arterial (mg/dl)	SSI	101,3±6,5	121,1±13,8	91,8±6,2 [b]	80,7±74	76±9,3
	HES	104,1±7,4	147±6,2 [a]	125,3±14,5[b]	89,1±10,2 [b]	77,4±8,1 [a b]
CPK (U/l)	SSI	444±88,1	736,6±102	800,5±111	1020,7±131	1208±177
	HES	617±14	879,8±135 [a]	767,8±115 [a]	943,4±188	1039,5±181 [a b]
ALT (U/l)	SSI	45,5±6,9	36,3±2,5	47±1,1	44±4,9	51±0,8
	HES	67,3±14,2	60,3±10,9	66,2±17,4	50±8,3 [a]	58,2±11,5
Sódio (mEq/l)	SSI	149,7±2,3	147,9±1,1	147,8±0,8	146,4±,1,0	149,3±0,6
	HES	147,6±1,1	148,1±1,0	149±1,5	150,9±2,3	149,4±1,1

[redacted]essivo e

sig[redacted]

Figura 19 – Evolução das medidas séricas de potássio, em mg/dl, durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES). ***Legendas**:* medida basal (BL), 60 minutos após início a indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após início da infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente).
Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. $^{a}p \leq 0,05$ vs. BL em ambos os grupos, $^{b}p \leq 0,05$ vs. MC60, em ambos os grupos, e $^{f}p \leq 0,05$ vs. HES-MC60.

No grupo HES, foi observada uma redução significativa da albumina sérica em R180 em relação ao BL (2,5 mg/dl *vs* 1,8mg/dl; BL *vs.* R180; *p*=0,033) (**Figura 20**).

Não ocorreram variações significativas nos níveis de creatinina, ALT, AST e sódio durante todo o protocolo experimental (**Tabela 8 e Figura 21**).

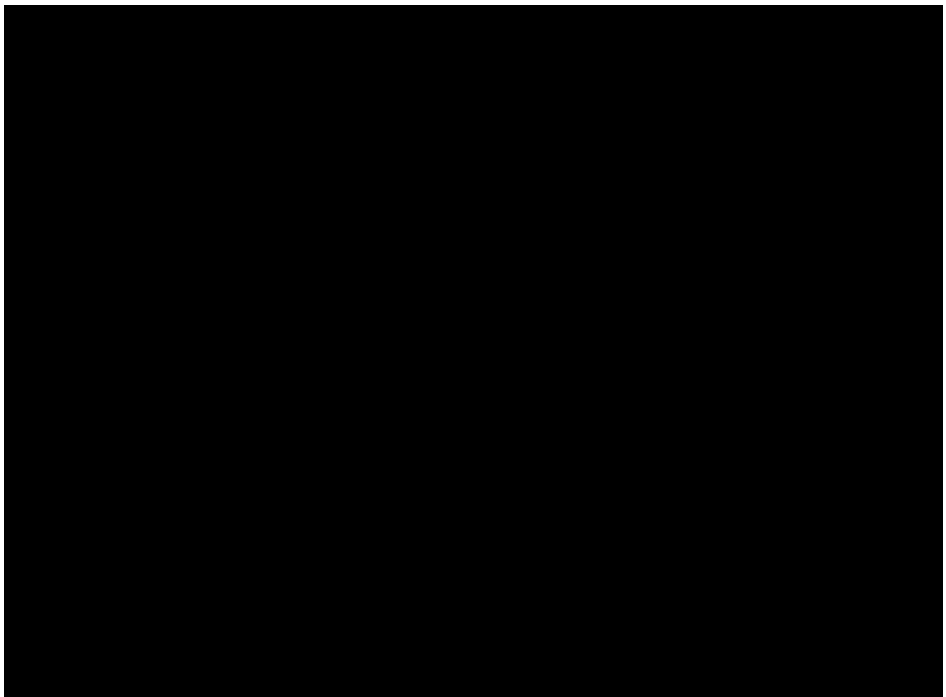


Figura 20 – Evolução das medidas séricas de albumina, em mg/dl, durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES). ***Legendas**:* medida basal (BL), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após início da infusão volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente).
Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. [c]p≤0,05 vs.SSI, [d]p≤0,05 vs. HES-BL, [e]p≤0,05 vs. SSI-MC60, [f]p≤0,05 vs. HES-MC60.

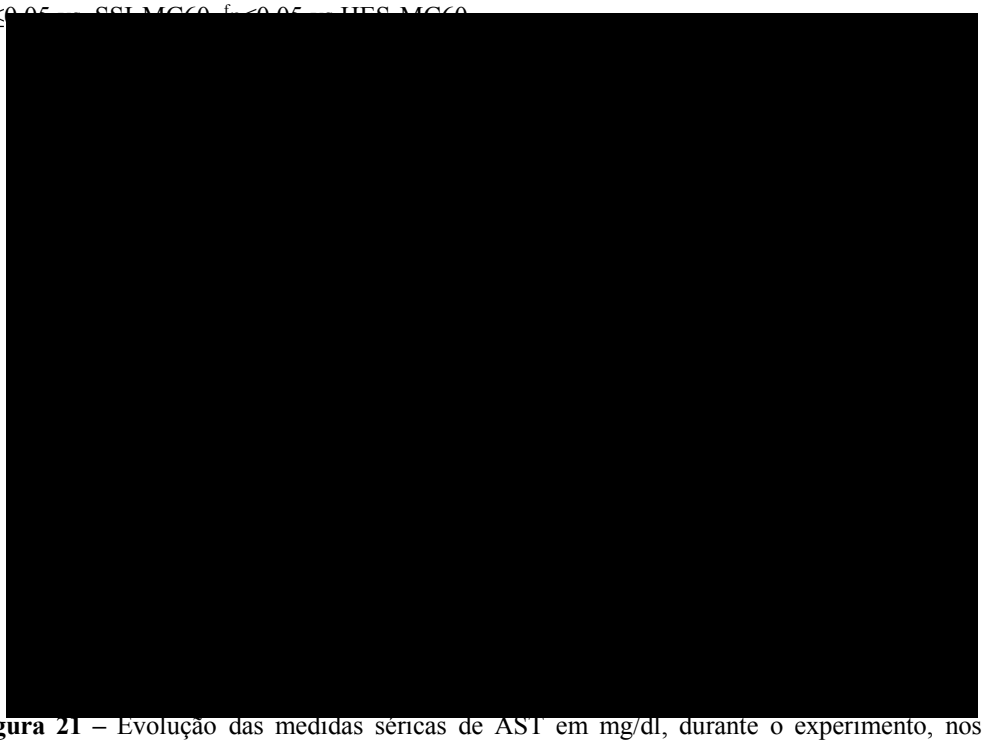


Figura 21 – Evolução das medidas séricas de AST em mg/dl, durante o experimento, nos grupos solução salina isotônica (SSI) e hidroxietilamido (HES). ***Legendas**:* medida basal (BL), 60 minutos após início da indução da morte cerebral (MC60) e 30, 120 e 180 minutos após início da reposição volêmica (R30, R120 e R180, respectivamente).
Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média.

4.3- Variáveis Histológicas

As lâminas de encéfalo realizadas em ambos os grupos para controle do método experimental apresentaram lesões importantes do parênquima encefálico, destacando-se extensas áreas de hemorragia, edema e necrose neuronal (**Figura 22**).

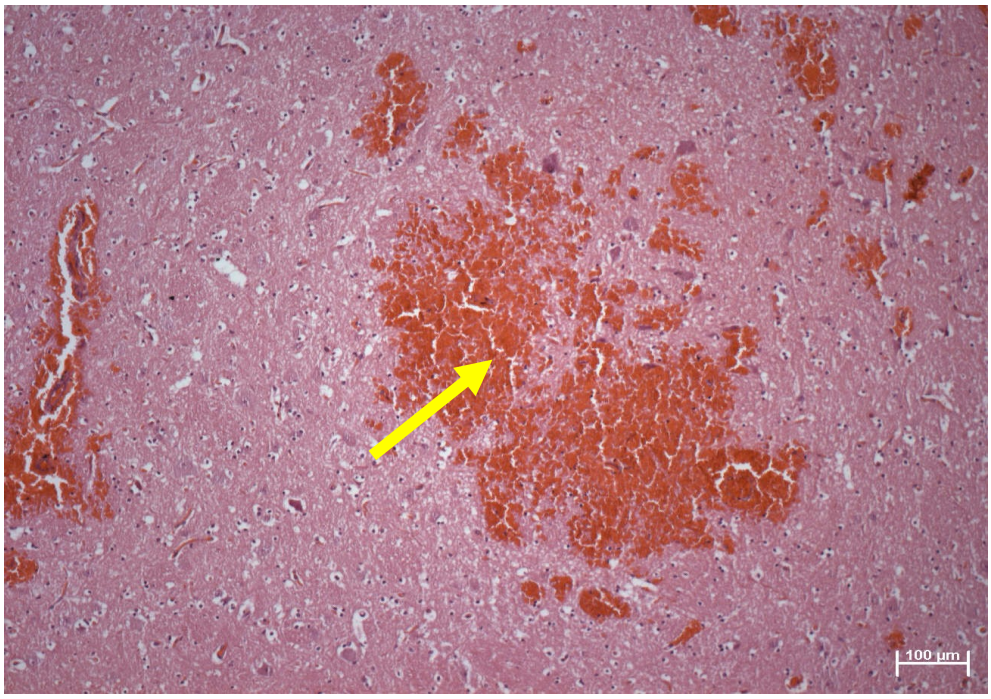


Figura 22- Corte histológico de encéfalo, mostrando áreas de hemorragia (seta), nas quais há necrose neuronal. Coloração pela hematoxilina e eosina, aumento da objetiva 10x.

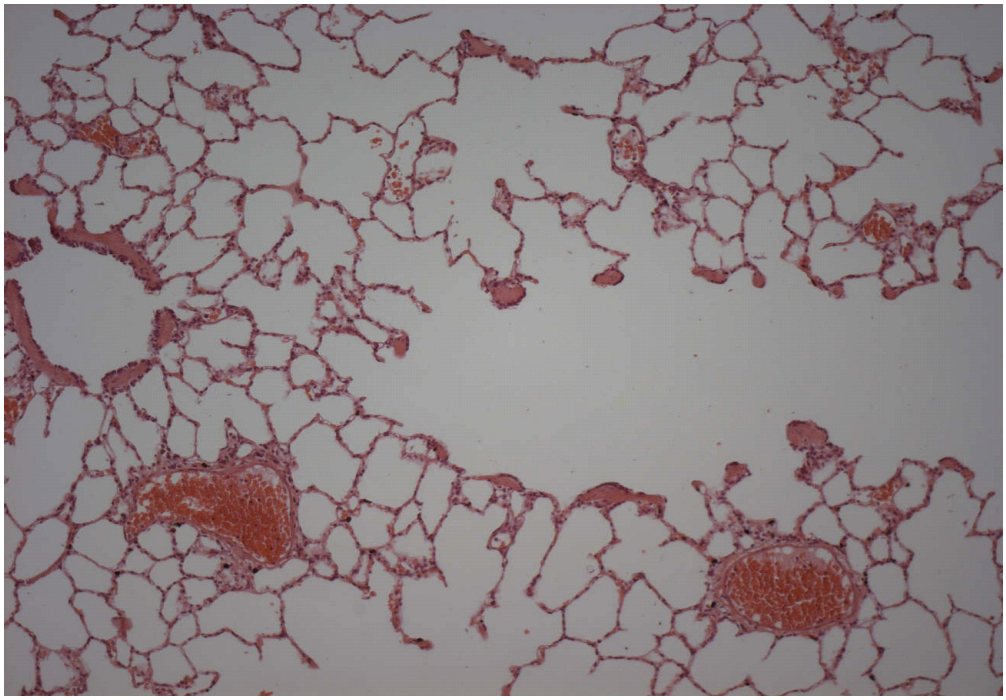


Figura 23- Corte histológico de pulmão, mostrando congestão (vasos da microcirculação preenchidos por hemáceas -setas). Coloração pela hematoxilina e eosina, aumento da objetiva 10x

No fígado, as principais alterações encontradas foram hemorragia, congestão e necrose centrolobulares (03/05 amostras alteradas no grupo SSI e 05/07 amostras no grupo HES) **(Figura 24)**

No grupo cristaloide, todos os fragmentos de intestino (05/05 amostras) apresentaram congestão de leve para moderada; já, no grupo coloide, um pouco mais da metade das amostras analisadas apresentaram esta alteração (04/07 amostras, **Figuras 25** e **26**).

Quanto à análise histológica do parenquima renal, o grupo cristaloide, as alterações mais evidentes são de necrose tubular aguda, de nefrite intersticial e de dilatação glomerular (04/05 amostras).

No grupo HES, estas alterações não foram tão evidentes, e foram observadas em apenas 2 das 7 amostras de tecido renal analisadas (**Figura 27**).

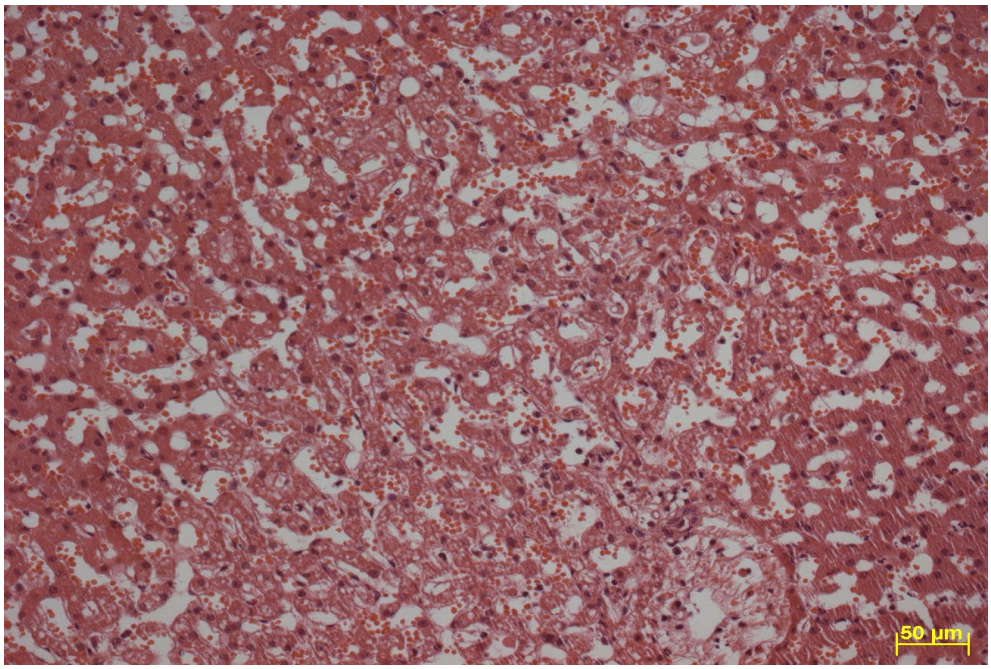


Figura 24- Corte histológico de fígado, mostrando congestão e necrose na região centrolobular. Coloração pela hematoxilina e eosina, aumento da objetiva 20x**.**

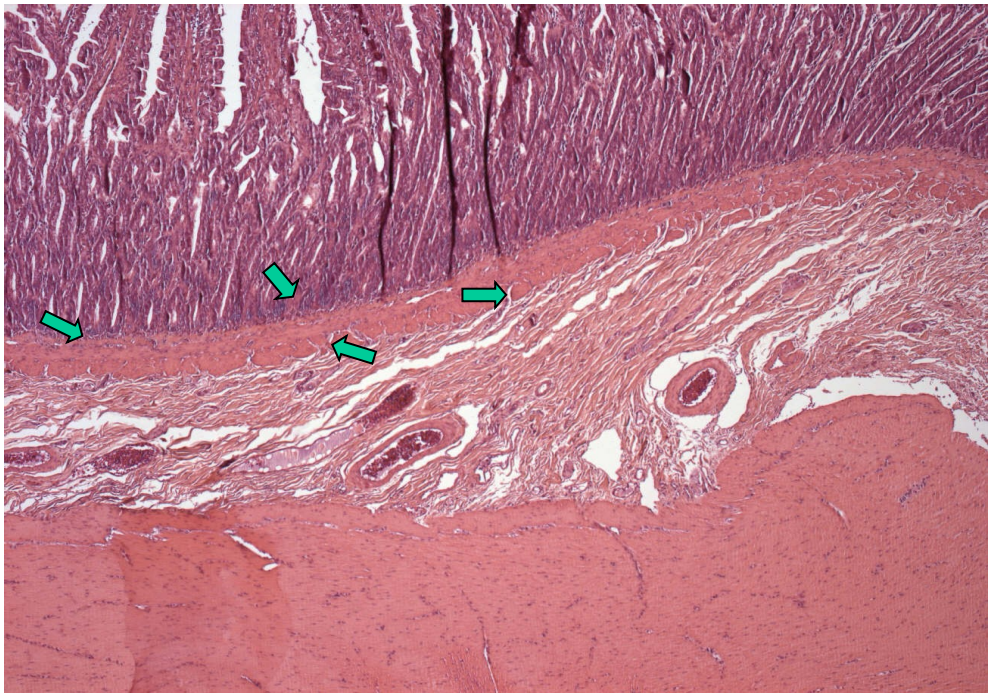


Figura 25- Corte histológico de intestino mostrando vasos congestos (alguns indicados por setas). Coloração pela hematoxilina e eosina, aumento da objetiva 5x.

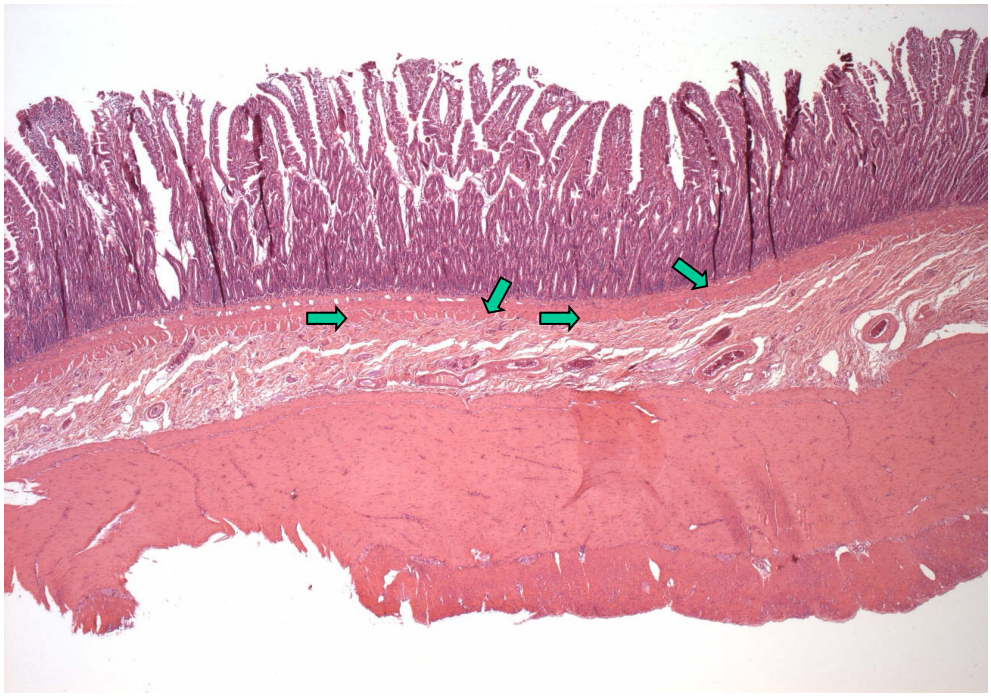


Figura 26- Corte histológico de intestino mostrando vasos congestos (alguns indicados por setas). Coloração pela hematoxilina e eosina, aumento da objetiva 2,5x.

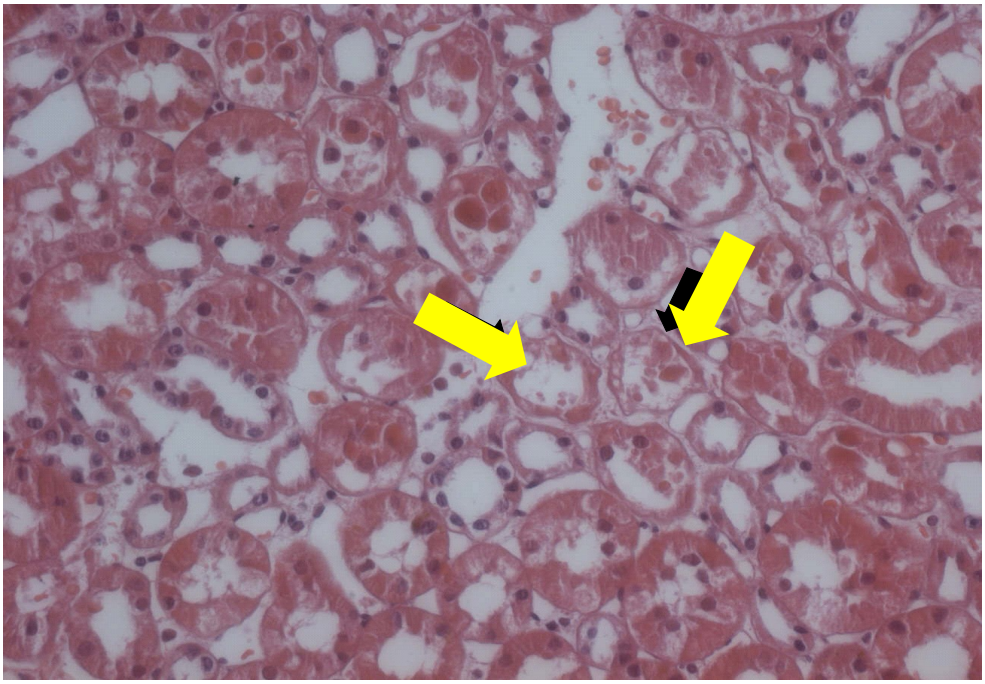


Figura 27- Corte histológico de rim, mostrando necrose tubular aguda, caracterizada pela presença de túbulos com perda do revestimento epitelial, alguns dos quais indicados pelas setas. Coloração pela hematoxilina e eosina, aumento da objetiva 40x

5. Discussão

O aumento do número de transplantes como terapêutica de doenças em estágio terminal determina a evolução de estratégias para o sucesso do procedimento.

Dados atuais do portal de saúde do governo brasileiro na internet (portal.saúde.gov.br/portal/saúde/área-cfm/id-área=1004) projetaram, em 2006, uma lista de espera de 66.019 pacientes, com base atualizada do número de 9.725 transplantes realizados no ano de 2001..

Com enfoque para a necessidade de preservação de órgãos em doadores e, com maior aproveitamento dos órgãos dos doadores, a Associação Brasileira de Transplante de Órgãos procura a padronização dos cuidados clínicos para os potenciais doadores (CORREA, 2006). No entanto, como em outras diretrizes internacionais, ainda não está estabelecido o esquema apropriado de infusão volêmica.

Nos últimos anos, tornou-se fundamental a necessidade do controle da reposição volêmica nos potenciais doadores de órgãos, principalmente devido à determinação da relação entre o excesso de volume infundido no doador e o edema generalizado dos órgãos utilizados, estando entre os mais afetados o de córnea, de fígado, de pâncreas e de pulmão. A presença de edema generalizado também implica em uma maior taxa de disfunção primária do enxerto (REILLY et

al., 1996; KARCIOGLU et al., 2003; WOOD et al., 2004; KUTSOGIANNIS et al., 2006).

Com base neste conceito, foi estudada a efetividade do uso da solução de hidroxietilamido (HES 450/0,7 6%) como agente expansor nos estados de hipotensão induzida pela morte cerebral. Neste modelo experimental, determina-se que volumes reduzidos da solução (HES 450/0,7 6%) proporcionam os mesmos benefícios hemodinâmicos e metabólicos da infusão de grandes volumes de soluções cristaloides isotônicas (17ml/kg *vs* 33ml/kg) durante a hipoperfusão sistêmica e regional induzida pela morte cerebral.

5.1. Modelo de morte cerebral e efeitos da infusão volêmica

Poucos estudos avaliaram as alterações hepatoesplâncnicas metabólicas e hemodinâmicas iniciais após a morte encefálica em modelo de animal de grande porte. Neste estudo, foram avaliadas as alterações sistêmicas e regionais em modelo que mimetiza doadores em morte cerebral (hipotensiva).

Foi demonstrado que, apesar da severa hipotensão, o fluxo sistêmico (mediado pelo débito cardíaco) e o fluxo hepatoesplâncnico foram parcialmente preservados. Adicionalmente, foi observado, em nível regional, que o fluxo sanguíneo da artéria hepática foi mais negativamente afetado

pelas alterações hemodinâmicas induzidas pela morte cerebral do que o fluxo sanguíneo venoso (fluxo portal).

O modelo apresentado simula os achados clínicos, na maioria dos pacientes com morte cerebral ocasionado por aumento súbito na pressão intracraniana. Conforme descrito por outros autores, na morte cerebral, as alterações cardiopulmonares são determinadas por duas fases: uma fase inicial sistêmica hiperdinâmica relacionada à herniação do tronco cerebral; e, uma segunda fase hipodinâmica, associada à má perfusão regional (HERIJGERS et al., 1996; ONUMATA et al., 2000; VAN DER HOEVEN et al., 2001).

O estado hiperdinâmico está associado a um significativo aumento da pressão arterial média (62,8%), débito cardíaco (33,3%) e de fluxos regionais (FVP 56,7% e FAH 88%). Essas mudanças são relacionadas com a herniação do tronco cerebral e significativo aumento da concentração plasmática de catecolaminas. Chen et al. (1999) demonstraram, em modelo canino de morte encefálica, um aumento repentino na circulação das concentrações de dopamina, epinefrina e norepinefrina (800%, 700% e 100%, respectivamente), 15 minutos após a indução da hipertensão intracraniana.

O estado hiperdinâmico induzido pelo aumento súbito da pressão intracraniana pode ser associado a diversas lesões cardíacas, incluindo: isquemia miocárdica transitória, infarto e arritmias que podem levar à

deterioração hemodinâmica e à morte em alguns casos (SZABÓ, 2004; FERRERA et al., 2005).

No presente estudo, foi induzido um aumento rápido e progressivo na pressão intracraniana 16,6± 4 a 274 ± (19 mmHg), a fim de obter um modelo que poderia reproduzir as alterações hemodinâmicas observadas em doadores com morte cerebral. No cenário clínico, doadores com aumento repentino da pressão intracraniana (observado nos pacientes com hemorragia intracerebral aguda) são associados a menores taxas de sobrevivência do enxerto, provavelmente relacionados com a hipoperfusão regional e/ou ativação descontrolada de mediadores inflamatórios no território esplâncnico (KARCIOGLU et al, 2003; KOUDASTAAL et al., 2005).

No período inicial de indução de MC, foi detectado aumento significativo da pCO_2 com acidose respiratória associado provavelmente ao aumento súbito da pós-carga do ventrículo direito e esquerdo secundário à tempestade autonômica. O aumento súbito da pressão média da artéria pulmonar e da pressão de oclusão da artéria pulmonar de aproximadamente 66 e 136% respectivamente, podem ser considerados fatores indutores de edema agudo de pulmão, de etiologia neurogênica.

O edema de pulmão, por sua vez, estaria associado a uma redução da ventilação alveolar e consequente retenção de CO_2. Estes achados também são confirmados pela avaliação histopatológica do pulmão com presença de congestão e focos hemorrágicos em quase todas as

amostras analisadas. Outros estudos também demonstram um aumento significativo de cerca de 10% do fluído extravascular pulmonar de cães submetidos a protocolo de morte cerebral como no trabalho realizado por Bittner et al. (1995).

Os mecanismos fisiopatológicos implicados na fase "hipodinâmica" são causados pelo desequilíbrio entre a estimulação simpática e vagal da medula rostral ventrolateral com consequente perda do tônus vascular e hipotensão (JAKOB et al., 2001; KOUDASTAAL et al., 2005). O desencadeamento súbito da morte encefálica em modelos frequentemente exige suporte inotrópico (HING et al., 2007). Doadores de órgãos que requerem suporte de catecolaminas revelaram ser deficientes em vasopressina (CHEN et ., 1999; Correa, 2006). Portanto, a vasopressina tem sido recomendada pelo *American College of Cardiology* para o suporte hemodinâmico e para o controle do diabetes *insipidus* que ocorre em doadores em morte cerebral (CINTRA et al., 2004; KUTSOGIANNIS et al., 2005; CORREA, 2006).

No presente estudo, demonstra-se que a fase hiperdinâmica foi caracterizada por um aumento da perfusão regional seguido por uma redução e manutenção do fluxo sanguíneo hepatoesplâncnico perto dos valores iniciais durante o período hipodinâmico. Estas mudanças no fluxo sanguíneo esplâncnico, não foram capazes de promover qualquer alteração significativa no consumo de oxigênio, apesar de grave hipotensão arterial sistêmica.

A hipotensão grave observada em nosso protocolo (115,3 ± 6.3 mmHg para 53,8 ± 3.1mmHg; BL *vs* MC60) apresentaram pouca repercussão no fluxo sanguíneo esplâncnico, como demonstrado pela não- significativa variação do fluxo sanguíneo da veia porta. Deve ser considerado que o fluxo sanguíneo esplâncnico é regulado principalmente, mas não somente, pelo débito cardíaco que ficou mantido após desinsuflação do balão intracraniano. Este fenômeno pode explicar a razão pela qual o fluxo sanguíneo regional sofre apenas uma ligeira redução, apesar da severa hipotensão. Além disso, a "exclusão" de circulação cerebral pode conduzir à redistribuição do fluxo sanguíneo sustentando irrigação do território hepatoesplâncnico. Esta é uma hipótese interessante, uma vez que este fenômeno é diferente de outros estados choques (choque séptico ou hemorrágico), no qual o fluxo sanguíneo cerebral acaba sendo mantido em detrimento da perfusão de outros territórios (GARRIDO et al., 2006; CRUZ JR et al., 2006).

Apesar da preservação do metabolismo de oxigênio global, é importante destacar que o fluxo da veia porta foi mais preservado do que o fluxo sanguíneo da artéria hepática. Estes resultados podem sugerir que não somente o débito cardíaco, mas o mecanismo intrínseco de microcirculação hepático desempenhou papel importante no controle do fluxo sanguíneo hepático após o choque mediado pela morte encefálica.

Okamoto et al. (2000) mostraram que a morte cerebral induz uma mudança deletéria na microcirculação e na função hepática

independentemente da pressão arterial sistêmica. O mecanismo intrínseco autorregulatório que é capaz de manter a entrega de oxigênio através de aumento compensatório do fluxo sanguíneo na artéria hepática (*buffer*) não foi observado neste estudo (JAKOB, 2001; CRUZ JR et al., 2005; RIBEIRO et al., 2005). A principal razão para estes resultados foi a manutenção do fluxo sanguíneo da veia porta, próximo aos valores iniciais durante o experimento.

Estudos anteriores em animais têm demonstrado que o metabolismo hepático é tolerante à hipotensão marcada após a indução da morte cerebral (OKAMOTO et al.,1990). No entanto, nenhum destes estudos avaliou com precisão o fluxo sanguíneo esplâncnico redistribuição e metabolismo de oxigênio em um modelo de hipotensor de morte encefálica.

Conforme citado anteriormente, a MC esteve associada à substancial aumento da pressão arterial na fase inicial. A intensa resposta adrenérgica, está associada vasoconstrição, aumento da resistência vascular e significante redução do fluxo local, propiciando o desenvolvimento de episódios isquêmicos em diversos órgãos (OROPELLO, 2004; POWNER et al., 2004; PEREIRA et al., 2006). No coração, essa cascata acarreta um aumento do trabalho do miocárdio, do consumo de oxigênio (O_2) entre outros parâmetros funcionais. O suprimento de O_2 para o coração, apesar de aumentado, é insuficiente para a demanda e acaba evoluindo para isquemia.

A análise laboratorial de CK determina um aumento intenso e agudo de cerca de 50% em relação aos valores. Após o quadro hipertensivo inicial, as fases de normo e hipotensão apresentam redução da atividade simpática, da resistência vascular e depressão da contratilidade miocárdica (CINTRA et al, 2004; GARCIA et al., 2006; POWNER et al., 2004; PRATSCHKE et al., 2004). No entanto, devido ao trauma cirúrgico e ao dano muscular inespecífico, este marcador não pôde determinar de forma específica agressão miocárdica.

A validação do método de indução da MC foi realizada por sinais clínicos de MC, compatíveis com a redução significativa do fluxo cerebral. Para determinação da MC, quatro cães do estudo piloto também foram submetidos a testes farmacológicos (teste de resposta à atropina), ausência de *drive* respiratório e análise necroscópica. No teste relacionado à atropina, não ocorreu reposta hemodinâmica tanto da frequência cardíaca como da pressão arterial média. Após infusão de 1mg deste fármaco via intravenosa, observou-se ainda ausência de *drive* respiratório após interrupção da ventilação mecânica nos animais submetidos à MC. Já, na análise necroscópica do cérebro, pode-se observar intensa congestão, presença de maciça necrose neuronal (perda de núcleos) e múltiplas regiões de necrose hemorrágica recente (principalmente no local próximo à insuflação do cateter), achados similares a estudos semelhantes como o de Kolkert et al. (2007).

Depois de estabelecida morte cerebral, testou-se a hipótese de que a infusão volêmica de solução de hidroxietilamido (HES 450/0,7 6%) poderia apresentar efeitos hemodinâmicos e metabólicos semelhantes a aqueles observados com a infusão de grandes volumes de cristaloides.

Não se observou diferenças hemodinâmicas ou metabólicas significativas entre o grupo ressuscitado com solução de cristaloide (SF 0.9%) ou coloide (solução de hidroxietilamido; HES 450/0,7 6%). No entanto, destaca-se que, mesmo em quantidade próxima à metade do volume de solução fisiológica, a solução de hidroxietilamido proporcionou uma tendência a aumento da pressão arterial média, pressão média da artéria pulmonar, débito cardíaco, fluxo da veia porta, fluxo da artéria hepática e da pressão de perfusão cerebral.

Salienta-se que, no campo dos transplantes, a redução do volume infundido pode ter impacto direto na redução de complicações como edema e disfunção do órgão.

Em relação às variáveis dependentes de oxigênio, foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à oferta sistêmica e hepática de oxigênio (momento R30). Reforçou-se que a redução da oferta de oxigênio sistêmico e regional pode ser relacionada a uma série de fatores incluindo: redução de fluxo regional, da hemoglobina e da saturação de oxigênio e não determinou alterações significativas da taxa de extração de oxigênio e nos níveis de lactato.

Apesar da redução do aporte de oxigênio hepático, principalmente pela redução do fluxo hepático arterial, não se observaram alterações significativas da aspartato e alanino transaminases. Portanto, neste modelo de morte cerebral, não houve lesão significativa do parênquima hepático, apesar da redução do fluxo sanguíneo para este órgão. Outros estudos também utilizaram transaminases como marcadores de lesão celular hepática como Ogawa et al. (2001) e Compagnon et al. (2002).

No entanto, autores como Golling et al.(2003) e Zhang e Chen (2004) apresentam, em seus estudos, elevação enzimática em períodos variáveis de 1 a 6 horas, porém sem promover intervenção terapêutica no período. Em relação aos achados histológicos, as principais alterações encontradas no parênquima hepático foram: hemorragia, congestão e necrose centro lobulares, não sendo observada diferença estatística entre os dois grupos experimentais.

A reposição volêmica esteve associada a uma redução de cerca de 8% dos níveis de hemoglobina, em relação à medida basal. A redução significativa dos valores de hemoglobina pode ser associada à possível redistribuição de líquidos dos compartimentos intra e extravasculares, além da hemodiluição transitória promovida pela infusão de grandes volumes durante a fase de ressuscitação. Porém, não houve diferença significativa entre os grupos durante todo o protocolo experimental. Outro fato que contribui para hipótese de hemodiluição foi a redução significativa da albumina sérica em ambos os grupos, duas horas após a

indução da MC. A redução dos níveis de albumina foi mais acentuada no grupo que recebeu solução de hidroxietilamido, relacionada provavelmente ao maior efeito coloidosmótico desta solução, quando comparado à solução salina isotônica.

Os benefícios da solução de hidroxietilamido sobre a solução salina 0,9% durante a infusão volêmica estão principalmente associados à propriedade de expansão plasmática da solução coloide (MIRANDA et al., 2001). A expansão volêmica inicial com HES 6% promove um aumento de 36% na pressão coloidosmótica, comparado a 11% com o uso de albumina e menos 12% com solução salina fisiológica (TREIB et al.,1999). De forma geral, esse tipo de solução expande o volume intravascular entre 0,8 a 1,5 vezes seu volume inicial (CHAMORRO et al., 2004).

Apesar de não se avaliar o fluxo renal durante o protocolo experimental, não se observaram alterações significativas da creatinina em ambos os grupos. A falência renal geralmente é observada em doadores de órgãos decorrentes da associação de baixo fluxo à resposta inflamatória. Entretanto, ressalta-se que o exame anatomopatológico demonstrou no grupo cristaloide alterações renais mais evidentes como necrose tubular aguda, nefrite intersticial e dilatação glomerular em 80% das peças coletadas, enquanto no grupo HES apenas 30% das amostras apresentaram estas alterações.

Conforme citado anteriormente, alguns estudos avaliam doses altas de HES com potenciais efeitos deletérios para a função renal, como

descrito por Cittanova et al. (1996), Wiedermann (2004). Apesar de dados conflitantes na literatura, este potencial efeito indesejável da solução de HES não foi observado neste estudo.

Outros estudos também estão de acordo com os nossos achados. Deman et al. (1999) avaliaram 119 transplantes renais com o uso de duas soluções distintas de HES, comparando-as com um grupo-controle com infusão de albumina. Não foi encontrada diferença significativa na função renal com o uso de HES em comparação ao grupo-controle. Estes achados divergentes podem ser atribuídos ao uso soluções de hidroxietilamido com diferentes pesos moleculares e diferentes graus de substituição (BLASCO et al., 2008). Além disso, Cittanova et al. (1996) utilizaram altas doses de HES (33 ml/Kg), podendo ser também uma das causas dos resultados conflitantes entre os estudos supracitados.

Notou-se um comportamento similar das variáveis laboratoriais ao longo do estudo. A elevação significativa dos níveis glicêmicos (104,1±7,4 *vs* 147±6,2) pode ter sido relacionado à descarga adrenérgica inicial induzida pela MC com ativação da glicogenólise e gliconeogênese. Previamente, Cohen et al. (2002) ressaltaram a importância da manutenção dos níveis glicêmicos dentro do padrão de normalidade, com uso de insulina em infusão contínua, se necessário. Em fase mais tardia, foi observada a redução de aproximadamente 30% da glicêmica em relação ao momento basal. Este quadro de hipoglicemia, observado três horas após a indução da MC, está associado provavelmente à depleção das reservas de glicose

relacionada ao estado catabólico com redução da produção de cortisol, glucagon, e de hormônios tireoidianos (hormônios hiperglicemiantes), bloqueio da gliconeogênese e depleção da reserva hepática de oxigênio.

Apesar de a morte cerebral estar geralmente relacionada à hipernatremia, devido principalmente ao desenvolvimento de diabetes insípidus, não se observaram, neste estudo, alterações significativas dos níveis séricos de sódio. Este fato está relacionado provavelmente ao curto período observacional após a indução da MC e a hemodiluição promovida pela infusão de grande quantidade de volume em um reduzido espaço de tempo.

5.2. Metodologia utilizada

Diferentes modelos de indução de MC podem ser utilizados para avaliação do impacto fisiopatológico na função dos órgãos do doador assim como a sobrevida dos enxertos. Um dos principais diferenciais entre os modelos experimentais adotados relaciona-se à velocidade de aumento da pressão intracraniana. A extensão da descarga de catecolaminas, nos experimentos realizados, teve relação direta com a forma de indução utilizada para MC. Em estudos como o de Kolkert et al. (2007), a insuflação lenta e progressiva de balão intracraniano (16 mililitro/minuto), em ratos, não foram observadas respostas hemodinâmicas tão repentinas e intensas.

A metodologia de indução da morte cerebral através de cateter balão foi utilizada como modelo neste estudo, por ser descrita na literatura com sucesso em experimentos anteriores. Autores como Bittner et al. (1995), Chen et al. (1996), Herijgers et al. (2004), entre outros, promoveram a validação desse método atualmente utilizado como padrão para indução experimental de MC.

O método adotado, em nosso estudo, promoveu um rápido e progressivo aumento da pressão intracraniana com média em torno de 18mmHg vs 270mmHg após 5 minutos do início da indução, simulando situações clínicas observadas principalmente em pacientes com hemorragia intracraniana. O tempo de indução da morte cerebral, através da insuflação do cateter preconizado, foi de 30 minutos, determinando controle da pressão de perfusão cerebral inferior a zero, promovendo, assim, a brusca redução do fluxo cerebral e consequente evolução de características clínicas (ausência de reflexos oculomotor, córneo-palpebral e fotorreação) e alterações hemodinâmicas (reflexo de Cushing), compatíveis com o diagnóstico de morte cerebral.

O método anestésico utilizado visou a manter limiar de sedação por meio de anestésico inalatório com meia vida curta (halotano), o qual permitisse, após sua cessação, rápido restabelecimento das funções corticais para o diagnóstico de morte cerebral. Para tanto, após cinco minutos do início da indução de MC, foi interrompida a utilização do anestésico, tempo determinado pela ausência de resposta dolorosa do

animal, após o término do reflexo de Cushing (herniação do tronco cerebral), dado determinado no estudo-piloto. Estudos semelhantes com necessidade da análise posterior da função cerebral também adotaram método similar de utilização de anestésicos inalatório como Ryan et al. (2000), Golling et al. (2003) e Noppens et al. (2006).

As variações hormonais, imunológicas e hemodinâmicas têm sido objeto de estudo para o aprimoramento de mecanismos de preservação dos órgãos dos doadores. Diversos autores, como Satur et al. (1998), Mehrabi et al. (2004) e Blasco et al. (2007) caracterizaram a tempestade autonômica determinada na indução da morte cerebral como causa fundamental dessas variações. Entre os métodos experimentais adotados para indução de MC, observou-se grande variação na amostra utilizada: cães, porcos, ratos e coelhos, realizados por autores como Compagnon et al. (2002), Golling et al. (2003), Van der Hoeven et al. (2001) e Ueno et al. (2000).

Apesar das diferenças significativas entre a anatomia esplâncnica do cão e da espécie humana, optou-se pela utilização de cães por serem animais de médio porte de fácil manipulação pelo biotério central, e por apresentarem, em estudos semelhantes, análise hemodinâmica passível de comparação, como nos estudos de Oishi et al. (2003) e Szabo et al. (2006). Além disso, utilizando o cão como animal de experimentação, este grupo de pesquisa tem apresentado contribuições relevantes que avaliam a perfusão esplâncnica em condições variadas de choque circulatório

(CRUZ JR et al., 2001; CRUZ JR et al., 2006; GARRIDO et al., 2006). Desta forma, o presente trabalho representa um prolongamento de uma linha de pesquisa, permitindo a aplicação de conhecimentos e comparação de resultados obtidos em estudos realizados previamente.

O número total da amostra pode ser considerado uma limitação, visto que, algumas variáveis mostraram uma tendência estatística, e que o número da amostra poderia aumentar o poder estatístico do estudo. No entanto, o número da amostra inicial (14 cães) foi projetado para promover uma análise estatística, conforme as variáveis determinadas por estudos semelhantes. Para tanto, foi realizada seleção aleatória para o pareamento dos grupos, que não apresentaram diferença estatística em relação ao peso e à idade estimada. Não se utilizaram, neste estudo, cães selecionados geneticamente com a finalidade de reproduzir a heterogeneidade dos potenciais doadores de órgãos.

A controvérsia em relação à melhor terapêutica de infusão volêmica em pacientes graves é encontrada na literatura com frequência. Revisões como a de Orlinsky et al. (2001), Cohen et al. (2002) e Perel e Roberts (2007) descrevem que doadores de órgãos em MC são frequentemente acometidos por desidratação e distúrbios eletrolíticos importantes, necessitando - na maioria dos casos - muita infusão de fluidos para manutenção hemodinâmica.

Também baseado nesse conceito, Randell et al. (1990) utilizaram duas estratégias diferentes para infusão volêmica em 16 potenciais doadores

vítimas de MC. O primeiro grupo, com uma combinação entre HES e cristaloide e, outro, apenas com cristaloide. Os autores relataram evolução hemodinâmica similar entre os grupos, apesar do reduzido volume infundido no grupo com coloide. Estes dados corroboram com os achados nesta pesquisa, em que , apesar do comportamento hemodinâmico semelhante entre os grupos experimentais, observou-se importante redução da infusão volêmica. A redução do volume de fluido utilizado para estabilização hemodinâmica associado ao potente efeito coloidosmótico da solução de hidroxietilamido pode apresentar benefícios importantes na redução do edema intersticial e consequente sobrevida do enxerto.

A utilização de HES como solução coloide de escolha para o estudo foi dada pela segurança e efetividade na ressuscitação volêmica demonstrada em outros estudos, assim como o custo benefício e a possibilidade de incorporação clínica. Coronel et al. (1994) realizaram comparação sistemática do efeito de solução de HES *vs* albumina em doadores de órgãos em morte cerebral. Os autores não encontraram diferenças entre os grupos quanto a complicações por sangramento, quantidade de volêmica utilizada, amilasemia e creatinemia. Destaca-se, nos resultados, o custo da albumina superior em cerca de 175% em relação ao HES.

Quanto à carga iônica relacionada à dose estabelecida como segura para o estudo, destaca-se que a infusão de solução salina a 0,9%,

apresenta dose equivalente de NaCl (nove gramas por 1000 ml) ao encontrado na solução de HES 450/0.7 – 6%, e a infusão de 17 ml/kg foi determinada em estudos semelhantes de infusão volêmica em cães submetidos a choque.

A dose de HES de 17 ml/kg foi determinada por estudos anteriores como o de Deman e cols (1999) que utilizaram doses até mais elevadas sem efeitos colaterais significativos, promovendo uma redução próxima a 50% do volume de solução cristaoide preconizada.

Este experimento visou a avaliar uma redução volêmica em torno de 50% entre os grupos, e avaliar também o potencial benefício de sua utilização, no modelo experimental preconizado.

Ao contrário de outros modelos de choque, em que se encontra variação importante do débito cardíaco, o potencial benefício expansor pela vasoplegia mediada pela MC seria potencializado pela ação reológica com melhora de entrega de oxigênio, distribuição de fluxo sanguíneo em microcirculação e até redução da ativação excessiva da cascata inflamatória. (CHAMORRO et al., 2004; MIRANDA et al., 2004; BOLDT, 2008)

Neste contexto, estudos desenvolvidos pelo grupo de pesquisadores deste trabalho, com diferentes modelos de choque experimental em cães, como os de Cruz Jr et al. (2006) e Garrido et al. (2006) demonstraram, em modelos de choque, a eficiência da expansão

volêmica com solução cristaloide na dose de 33 e 32ml/kg/min, respectivamente.

Outro questionamento gerado pode ser relacionado a uma infusão volêmica fixa não mediada pela resposta hemodinâmica e metabólica, assim como a possível associação de drogas vasopressoras ou de hormônios tireoidianos (ambos relatados em literatura como agente adjuvante na manutenção de doadores de órgãos). No entanto, a intenção do estudo foi avaliar isoladamente as terapias de infusão volêmica em modelo controlado de morte cerebral com a intenção de identificar potencial benefício da solução coloide, em condições clínicas que mimetizassem um doador marginal.

A falta de exames de imagem como angiografia cerebral e eletroencefalograma também podem ser consideradas como limitação do estudo no diagnóstico de MC, visto que as diretrizes da ABTO preconizam a utilização de exame de imagem para o diagnóstico de MC. Porém, o modelo utilizado neste estudo já foi validado na literatura experimental por autores como Bittner et al. (1995) e Chen et al. (1996), e tem como base a determinação do diagnóstico da MC pela identificação do reflexo de Cushing, pela ausência dos reflexos neurológicos. Além disso, coletaram-se amostras de tecido cerebral com a finalidade de demonstrar as alterações induzidas pelo aumento abrupto da pressão intracraniana e redução do fluxo sanguíneo cerebral.

O tempo experimental (4 horas após o início da morte cerebral) visou à avaliação adequada da resposta hemodinâmica e metabólica promovida pela infusão volêmica das duas soluções. No entanto, a falta de controle tardio é considerada como limitação do estudo.

A não-inclusão de grupo controle com indução de morte cerebral sem infusão volêmica se deu em vista do conhecimento prévio da evolução do modelo, extensamente estudado e estabelecido em pesquisas semelhantes.

5.3. Considerações finais

Destacaram-se neste modelo de choque determinado pela indução de morte cerebral: hipotensão com manutenção do débito cardíaco, relativa preservação do fluxo regional esplâncnico e pequenas alterações de variáveis metabólicas. Dados que, em comparação às outras formas de choque (cardiogênico e séptico) diferem de forma significativa, promovendo hipóteses de possíveis mecanismos de redistribuição de fluxo envolvidos no

processo, como exemplo: a parcial exclusão do fluxo cerebral e também parcial manutenção do fluxo hepatoesplâncnico.

Esses achados justificam a necessidade do conhecimento fisiopatológico para evolução do manejo terapêutico desses potenciais doadores de órgãos. Talvez a meta mais importante não seja a simples manutenção da pressão arterial e sim a busca para preservação metabólica e imunológica.

Apesar de considerar as limitações e a distância entre o experimento realizado em cães e a prática clínica, observaram-se, neste estudo, os efeitos iniciais da reposição volêmica na redistribuição de fluxo e o metabolismo de oxigênio sistêmico e loco regional.

Dentro dos limites da experimentação animal, também foi demonstrado que volumes reduzidos da solução (HES 450/0,7 6%) proporcionara os mesmos benefícios hemodinâmicos e metabólicos da infusão de grandes volumes de soluções cristaloide isotônicas durante a hipoperfusão sistêmica e regional induzida pela morte cerebral.

Ressalta-se, no entanto, que estudos futuros são necessários para determinar os potenciais benefícios da utilização racional de coloides na preservação metabólica e hemodinâmica de doadores de órgãos e seu impacto desta intervenção na disfunção primária do enxerto.

6. CONCLUSÃO

Baseados nos resultados obtidos neste estudo experimental, pode-se concluir que a infusão de pequeno volume da solução de hidroxietilamido (HES 450/0,7) apresenta efeitos hemodinâmicos e metabólicos, sistêmicos e regionais similares à infusão de grande volume de solução salina isotônica (NaCl 0,9%).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDERSON, P.; BUNN, F., LEFEBVRE, C., LI, WP, ROBERTS, I, SCHIERHOUT, G et al. Human albumin solution for resuscitation and volume expansion in critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002; (1):CD 001208.
2. ARBOUR, R. Clinical management of organ donor. *ACNN Clin Issues*. 2005 oct-dec;16 (4):551-80.
3. AVLONITIS, VS; WIGFIELD, CH; KIRBY, JA; DARK, JH. The hemodynamic mechanisms of lung injury and systemic inflammatory response following brain death in the transplant donor. A*nesthesiology*. 2005 November;103 (5):957-961.
4. _____. Early hemodynamic injury during donor brain death determines the severity of primary graft dysfunction after lung transplantation. *Am J Transplant.* 2007 Jan; 7(1):83-90.
5. BITTNER, HB; KENDALL, SW; CHEN, EP; VAN, Trigt P. Endocrine changes and metabolic responses in a validated canine brain death model. *Journal of Critical Care.* 1995; 10(2):56-63.
6. _____. CRAIG D. The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamic and pulmonary blood flow characteristics. *Chest* 1995;108;1358-1363.
7. BLASCO, V; LEONE, M; BOUVENOT, J; GEISSLER, A; ALBANÈSE J; MARTIN, C. Comparison of the novel hydroxyethylstarch 130/0.4

and hydroxyethylstarch 200/0.6 in brain-dead donor resuscitation on renal function after transplantation. *Br J Anaesth.* 2008 Apr; 100(4): 504-8

8. _____. Impact of intensive care on renal function before graft harvest: results of a monocentric study. *Crit Care.* 2007; 11(5):R103.

9. BOLDT, J. Saline versus balanced hydroxyethyl starch: does it matter*?. Curr Opin Anaesthesiol*. 2008 Oct; 21(5):679-83.

10. _____. PRIEBE, HJ. Intravascular Volume Replacement Therapy with Synthetic Colloids: Is There an Influence on Renal Function? *Anesth Analog.* 2003 feb; 96(2):376-82.

11. CHAMORRO, C; ROMERA, MA; MÁRQUEZ, J. Farmacolgía de los colóides sintéticos. *Emergencias*. 2004;16:S28-S35.

12. CHEN, Edward P; BITTNER, Hartmuth B.; KENDALL, Simon W.H. FRCS; VAN Trigt, Peter. Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death. *Critical Care Medicine.* 1996 Aug, 24(8):1352-59.

13. CHOI, PT; YIP, G; QUINONEZ, LG. Crystalloids vs. Colloids in fluid resuscitation: A systemic review. *Crit Care Med* 1999; 27: 200-10.

14. CINTRA, EA; MACIEL, JA; ARAUJO, S; CASTRO, M; MARTINS, EF; FALCÃO, AL et al. Vasopressin serum levels in patients with severe brain lesions and in brain-dead patients. *Arq.Neuropsiquiatr*. 2004 Jun; 62(2A):226-32.

15. CITTANOVA, ML; LEBLANC, I; LEGENDRE, CH; MOUQUET, C; RIOU, B; CORIAT, P. Effect of hydroxyethylstarch in brain-dead kidney donors on renal function in kidney-transplant recipients. *The Lancet*. 1996; 348:1620-22.

16. COCHRANE INJURIES GROUP ALBUMIN REVIEWERS: Human albumin administration in critically ill patients; Systematic review of randomized clinical trials. *Br Med J* 1998; 317: 235-40.

17. COHEN, J; CHERNOV, K; BEN-SHIMON, ORA; SINGER, P. Management of the Brain-Dead, Heart-Beating potential Donor. *IMAJ*. 2002, 4: 243-46.

18. COMPAGNON, P; WANG, H; LINDELL, S; AMETAN,I MS. Brain death does not affect hepatic allograft function and survival after orthotropic transplantation in a canine model. *Transplantation*. 2002 April; 73: 1218-27.

19. COOPER, DKC; BASKER M. Physiologic changes following brain death. *Transplantation Proceedings.* 1999; 31:1001-1002.

20. _____.DJ. Salines, Osmoles and Albumines. *Crit Care Resusc*. 2005 Sep; 7(3):177-80.

21. CORREA, JBB. Manejo Hemodinâmico do Doador de Múltiplos Órgãos. In: Garcia VD, Abud Filho M, Neumann J, Pestana JOM,. *Transplantes de Órgãos e Tecidos*. 2ª. ed. São Paulo: Segmento Farma; 2006. 138-140.

22. CORONEL, B; LAURENT, V; MERCATELL, A; BRET, M; COLON, S; COLPART, JJ; MOSKOVTCHENKO, JF. Can hydroxyethylamidon be used during intensive care of brain dead organ donors?. *Annales Fr Anesth Reanim* 1994, 13 (1): 10-6.

23. CRUZ JR, RJ; PERIN, D; SILVA, LE; VALÉRIO, FB; BRANCO, MC; FIGUEIREDO, LFP; SILVA MR. Radioisotope blood volume measurement in uncontrolled retroperitoneal hemorrhage induced by a transfemoral iliac artery puncture. Injury, *Int. J. Care Injured*. 32 (2001) 17-21.

24. _____.YADA-LANGHI, MM; FIGUEIREDO, LFP; SINOSAKI, S; SILVA, MR. The synergistic effects of pentoxifylline on systemic and regional perfusion after hemorrhage and hypertonic resuscitation. *Anesth Analg*. 2006; 102: 1518-24.

25. DAVIDSON, IJ. Renal Impact of Fluid management with colloids: a comparative review. *Eur J Anaesthesiol.* 2006 Sep; 23(9):721-38.

26. DEMAN, A; PEETERS, P; SENNESAEL, J. Hydroxyethyl starch does not impair immediate renal function in kidney transplant recipients: a retrospective, multicentre analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 1999; 14:1517-20.

27. DIMOPOLOU, 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. *Critical Care Medicine*. 2003; 31(4):1113-1117.

28. FERRERA, R; OVIZE, M; CLAUSTRAT, B; HADOUR, G. Stable myocardial function and endocrine dysfunction during a brain death. *J Heart Lung Transplant*. 2005; 24 (7): 921-927.

29. FINFER, S; BELLOMO, R,; BOYCE, N, ;FRENCH, J, ;MYBURGH, J,; NORTON, R. SAFE Study Investigators. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med*. 2004 May 27;350(22):2247-56. Dr. Fabio: confira, por gentileza, se os autores estão separados adequadamente pelos pontos-e-vírgulas. Isto porque os nomes estavam todos juntos, sem pontuação alguma.

30. FRAGA, AO; FANTONI, DT; OTSUKI, DA; PASQUALUCCI, CA; ADBUCH, CD; AULER JUNIOR, JOC. Evidence for Myocardial Defects Under Extreme Acute Normovolemic Hemodilution with Hydroxyethyl Starch and Lactated Ringer's Solution. *Shock* 2005, 24(4); 388-395.

31. GARCIA, VD. A política de transplantes no Brasil. *Revista da AMRINGS.* 2006 out-dez; 50 (4):313-20.

32. _____. ALMEIDA, TAM; PINTO, JBT. Processo de doação – Transplante. In: Garcia VD, Abud Filho M, Neumann J, Pestana JOM,. *Transplantes de Órgãos e Tecidos.* 2ª. ed. São Paulo: Segmento Farma; 2006. Cap 11: 120-125.

33. GARRIDO, APG; CRUZ JR, RJ; FIGUEIREDO, LFP; SILVA, MR. Small volume of hypertonic saline as the initial fluid replacement in experimental hypodynamic sepsis. *Critical Care*. 2006; 10: R62: 1-9.

34. GASSER, M; WAAGA, AM; LASKOWSKI, IA; TILNEY, NL. The influence of donor brain death on short and long-term outcome of solid organ allograft. *Ann Transplantation.* 2000; 5(4): 61-67.

35. GIRAL, M; BERTOLA, JP; FOUCHER, Y; VILLERS,D; BIRONEAU, E; BLANLOEIL, Y; KARAM, G; DAGUIN, P; LERAT, L; SOULILLOU, JP. Effect of brain-dead donor resuscitation on delayed graft function: results of a monocentric analysis. *Transplantation* 2007; 83: 1174-1181.

36. GOLLING, M; MEHRABI, A; BLUM, K; JAHNKE, C; KELLNER, H; BUD, O; HASHEMI, B; BREITKREUTZ, R. Effects of hemodynamic instability on brain death-induced prepreservation liver damage. *Transplantation.* , 2003 April; 75(8):1154-1159.

37. GRAMM, HJ; MEINHOLD, H; BICKEL, U,; ZIMMERMANN, J; VON HAMMERSTEIN, B; DENNHARDT, R et al. Acute endocrine failure after brain death? *Transplantation.* 1992; 54(5):851-857.

38. HARDY, JD; ERASLAN, S; DALTON ,ML Jr. Autotransplantation and Homotransplantation of the Lung: Further Studies..*J Thorac Cardiovasc Surg.* 1963 Nov;46:606-15.

39. HERIJGERS, P; NISHIMURA, Y; FLAMENG, W. Endothelial activation through brain death? *J Heart Lung Transplant*. 2004; 23(9S):S234-S239.

40. HING, AJ; HICKS, M; GARLICK, SR; GAO, L; KESTEVEN, SH; FADDY, SC et al. The effects of hormone resuscitation on cardiac

function and hemodynamic in a porcine brain-dead organ donor model. *Am J Transplant.* 2007 Apr; 7(4):809-17.

41. HOWARD, RJ; SCHOLD, JD; CORNEL,L DL. A 10-year analysis of organ donation after cardiac death in the United States. *Transplantation*. 2005, Sep; 80(5):569-70.

42. HUET, RCG; SIEMONS, AW; BAUS, D; VAN ROOYEN BUTIJN, WT; HAAGENAARS, JAM; VAN OEVEREN, W; BEPPERLING, F. A Novel Hydroxyethyl Starch for Effective Perioperative Plasma Volume Substitution in Cardiac Surgery. *Can J Anesth*. 2000, 47 (12): 1207-15.

43. JAKOB, SM; TENHUNEN, JJ; LAITINEN, S; HEINO, A; ALHAVA, E; TAKALA, J. Effects of systemic arterial hypoperfusion on splanchnic hemodynamic and hepatic arterial buffer response in pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001; 280: G819-G827,.

44. KARCIOGLU, Ö; AYRIK, C; ERBIL, B. The brain-dead patient or a flower in the vase? The emergency department approach to the preservation of the organ donor. *Eur J Emerg Med*. 2003, 10(1): 52-57.

45. KASPER, SM; MEINERT, P; KAMPE, S; GÖRG, C; GEISEN, C; MEHLHORN, U; DIEFENBACH, C. Large dose Hydroxyethyl Starch 130/0.4 Does Not Increase Blood Loss and Transfusion Requirements in Coronary Artery Bypass Surgery Compared with Hidroxyethyl

Starch 200/0.5 at Recommended Doses. *Anesthesiology.* 2003, 99 (1); 42-7

46. KOLKERT, JL; 'T HART, NA; VAN DIJK, A; OTTENS, PJ; PLOEG, RJ; LEUVENINK, HG. The gradual onset brain death model: a relevant model to study organ donation and its consequences on the outcome after transplantation. *Lab Anim.* 2007 Jul; 41 (3):363-71.

47. KOUDSTAAL, LG; ´T HART, NA; VAN DEN BERG, A; OLINGA, P; VAN GOOR, H; PLOEG, RJ et al.. Brain death causes structural and inflammatory changes in donor intestine. *Transplantation Proc*. 2005 Jan-Feb; 37(1): 448-9.

48. KUECUEK, O; MANTOUVALOU, L; KLEMZ, R; KOTSCH, K; VOLK, HD; JONAS, S et al. Significant Reduction of proinflamatory cytokines by treatment of the brain-dead donor. *Transplantation Proc.* 2005, 37 (387-388).

49. KUTSOGIANNIS, DJ; PAGLIARELLO, G; DOIG, C; ROSS, H; SHEMIE, SD. Medical management to optimize donor organ potential: review of the literature. *Can J Anesth.* 2006, 53(8):820-30.

50. LAHANA, A; COSTANTOPOULOS, S; NAKOS, G. The local component of acute cardiovascular response to simulated apneas in brain-dead humans. *Chest*. 2005; 128(2): 634-39.

51. LAXENAIRE, MC; CHARPENTIER, C; FELDMAN, L et LE GROUPE FRANCAIS D'ETUDE DE LA TOLERANCE DES SUBSTITUTES PLASMATIQUES. Réactions anaphylactoides aux substitutes

colloidaux du plasma: incidence, facteurs de risque, mécanismes. *Ann Fr Anesth Réanim* .1994; 13:301-10.

52. LIU, CC; KE, D; CHEN, ZC; LIN, MT. Hydroxyethyl starch produces attenuation of circulatory shock and cerebral ischemia during heatstroke. *Shock.* 2004; 22(3):228-94.

53. MACHADO, C. The first organ transplant from a brain-dead donor. *Neurology.* 2005; 64:1938-1942.

54. MACINTYRE, E; MACKIE, IJ; HO, D; TINKER, J; BULLEN, C; MACHIN, SJ. The haemostatic effects of hydroxyethyl starch (HES) used as a volume expander. *Int Care Med* .1985; 11:300-3.

55. MANGINO, MJ; KOSIERADZKI, M; GILLIGAN, B; WOO, H; SOUTHARD, JH. The effects of donor brain death on renal function and arachidonic acid metabolism in a large animal model of hypothermic preservation injury. *Transplantation*. 2003; 75(10): 1640-1647.

56. MARSHALL, VC. Pathophysiyologic of brain death: effects on allograft function. *Transplant Proc.* 2001;33: 845-846.

57. MASCIA, L; BOSMA, K; PASRO, D; GALLI CORTESE, G; DONADIO, P; BOSCO, R. Ventilatory and hemodynamic management of potential organ donors: an observational survey. *Critical Care Medicine*. 2006; 34 (2):321-327.

58. MEHRABI, A.; GOLLING, M.; KÖRTING, M.; HASHEMI, B.; AHMADI, R.; et al. Different impact of normo and hypotensive brain death on

renal macro and microperfusion an experimental evaluation in a porcine model. *Nephrol Dial Transplant*. 2004, 19(10): 2456-63.

59. MERTES, PM; EL ABASSI, K; JABOIN, Y; BURTIN, P; PINELLI, G; CARTEAUX, JP et al. Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig. *Transplantation*. 1994 Aug; 58 (4):414-8.

60. MIES, S. Tranplante de fígado. *Rev Ass Méd Brasil*. 1998; 44(2): 127-34.

61. MIZUMOTO, N; TANGO, HK; PAGNOCCA, ML. Efeitos da hipertensão arterial induzida sobre a complacência e pressão de perfusão encefálica em hipertensão intracraniana experimental: comparação entre lesão encefálica criogênica e balão subdural. *Rev Bras Anestesiol*. 2005, 55(3):289-307.

62. MIRANDA, VRM; TARRÍO, FR; PACHECO, BLC. Soluciones Utilizadas en el Tratamiento de la hipovolemia. *Rev Cubana Pediatr*. 2001, 73(2):86-94.

63. _____; BARZAGA, GAL; SOTO, VV; SOUTO, EP; BLANCO, NT. Reemplazo de volumen. Coloides (II). *Rev Cubana Pediatr.* 2004 Abr-Jun; 76(2):0-0.

64. MURRAY, G; HOLDEN, R. Transplantation of kidneys, experimentally and in human cases. *Am J Surg.* 1954 Apr;87(4):508-15.

65. MYBURGH, J; COOPER, DJ; FINFER, S; BELLOMO, R; NORTON, R; BISHOP, N; KAI LO, S; VALLANCE, S. The SAFE investigators.

Saline or Albumine for Fluid Resuscitation in Patients with Traumatic Brain Injury. *N Engl J Med.* 2007; 357(9): 874-84.

66. NASCIMENTO, PJ; PAIVA FILHO, O; CARVALHO, RL; BRAZ, CJ. Early haemodynamic and Renal Effects of Hemorrhagic Shock Resuscitation with Lactated Ringer's Solution, Hydroxyetyl Starch, and Hypertonic Saline with or without 6% Dextran-70. *J Surg Res.*. 2006 Jun. 136(1):98-105.

67. NICOLAS-ROBIN, A; AMOUR, J; IBANEZ-ESTEVES, C; CORIAT, P; RIOU, B; LANGERON, O. Effect os glucose-insulin-potassium in severe heart failure after brain death. *Crit Care Med*. 2008 Oct, 36 (10) 2740-5.

68. NIJBOER, WN; SCHUURS, TA; VAN DER HOEVEN, JAB; PLOEG, RJ. Effect of brain and donor treatment on organ inflammatory response and donor organ viability. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2004, 9(110-115).

69. NOVITZKY, D; COOPER, DK; ROSEDALE, JD; KAUFFMAN, HM. Hormonal therapy of the brain dead organ donor: experimental and clinical studies. *Transplantation*. 2006; 82(11):1396-1401.

70. NOPPENS, RR; CHRIST, M; BRAMBRINK, AM; KOERNER, IP; HEIMANN, A; KEMPSKI, O. An early bolus of hypertonic saline hydroxyethyl starch improves long-term outcome after global ischemia. *Crit Care Med.* 2006. 24(8):2194-2200.

71. OGAWA, K; ITO, Y; TAKAHASHI, T; ONUMATA, O; SATO, K; KAKITA, A. Effects of cortisol administration on hepatic circulation during brain death in rabbits. *Surgery*. April 2002, 131(4):450-462.

72. OISHI, Y; NISHIMURA, Y; IMASAKA, K; KAJIHARA, N; MORITA, S; MASUDA, M; YASUI, H. Impairment of coronary flow reserve and left ventricular function in brain dead canine heart. *Eur J Cardio-Thoracic Surg*. 2003; 24: 404-410.

73. OLIVEIRA, RP; WEINGARTNER, R; RIBAS, EO; MORAES, RS; FRIEDMAN, G. Acute haemodynamic effects of a hypertonic saline/dextran solution in stable patients with severe sepsis. *Intensive Care Med*.2002; 28:1574-81.

74. ONUMATA, O; TAKAHASHI, T; OGAWA, K; SATO, K; KAKITA, A. Effects of hypotension on hepatic circulation and function: comparison of brain death and exsanguinations models. *Transplant Proc*. 2000; 32: 2293-2296.

75. ORLINSKY, M; SHOEMAKER, W; REIS, ED; KERSTEIN, MD. Current Controversies in Shock and Ressucitation. *Surgical Clinics of North America*. 2001, 81 (6): 1217-62.

76. OROPELLO, JM. Determination of brain death: theme, variations, and preventable errors. *Critl Care Med*. 2004; 32(6):1417-1418.

77. PEREIRA, MG; CARVALHO, RC; PESTANA, JOM. Morte Encefálica. In: Garcia VD, Abud Filho M, Neumann J, Pestana JOM. In: GARCIA, VD; ABUD FILHO, M; NEUMANN, J; PESTANA, JOM,. *Transplantes*

de Órgãos e Tecidos. 2ª. Ed. São Paulo: Segmento Farma; 2006. 93-101.

78. _____;, W.A. *Reunião de Diretrizes Básicas para Captação e Retirada de Múltiplos Órgãos e Tecidos da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos*. 2003 1.a edição.

79. PEREL, P; ROBERTS, IG. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews 2007*, Issue 4.Art No.:CD 000567.DOI: 10.10002/14651858.Cd000567.pub3.

80. POWNER, DJ; HERNANDEZ, M; RIVES, TED. Variability among hospital policies for determining brain death in adults. *Crit Care Med*. 2004; 32 (6):1284-1288.

81. PRATSCHKE, J; VOLK, HD. Brain death-associated ischemia and reperfusion injury. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2004, 9(153-158).

82. _____; WILHELM, MJ; KUSAKA, M; BASKER, M; COOPER, DKC; HANCOCK, WW; TILNEY, NL. Brain death and it's influence on donor organ quality and outcome after transplantation. *Transplantation.* 1999 Feb; 67 (3):343-348.

83. _____.; NEUHAUS, P.; TULLIUS, SG. Brain death associated ischemia/reperfusion injury. *Am J Transplant.*. 2005 April;5(4):684-93

84. _____. What can be learned from brain-death models?. *Ann Transplantation.* 2004; 9(1):78-80.

85. RACKOW, EC; FALK, JL; FEIN, IA; SIEGEL, JS; PACKMAN, MI; HAUPT, MT; KAUFMAN, BS; PUTNAM, D. Fluid resuscitation in circulatory shock: a comparison of the cardiorespiratory effects of albumin, hetastarch, and saline solutions in patients with hypovolemic and septic shock. 1983; *Crit Care Med*. 11: 839-850.

86. RANDELL, T; ORKO, R; HECKERSTEDT, K. Peroperarive fluid management of the brain dead multiorgan donor. *Acta Anaesthesiol Scand* .1990, 34 (7): 592-5.

87. REILLY, PM; GROSSMAN, MD; ROSENGARD, BR; et al. Lung procurement from solid organ donors: role of fluid resuscitation in procurement failures. *Chest* 1996; 110:222S.

88. ROSENDALE, J; KAUFFMAN, M; MAUREEN, M. Aggressive pharmacologic donor management results in more transplanted organs. *Transplantation*. 2003; 75(4): 482-487.

89. RYAN, JB; WILSON, MK; HICKS, M; NICHOLSON, A; KESTEVEN, SH; JUNIUS, F; et al. A brain dead donor model of porcine orthotopic cardiac transplantation for assessment of cardiac allograft preservation. *Heart Lung and Circulation.*2000; 9: 78-81.

90. SADE, RM; STROUD, MR; CRAWFORD, FA JR; KRATZ, JM; DEARING, JP; BARTLES, DM. A prospective randomized study of hydroxyethyl starch, albumin, and lactated Ringer's solution as priming fluid for cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*.1983; 89:713-722.

91. SANCHEZ-OLMEDO, JI; FLORES-CORDEIRO, JM; RINCÓN-FERRARI, MD; PÉREZ-ALÉ, M; MUÑOZ-SÁNCHEZ, MA; DOMINGUEZ-ROLDAN, JM et al. Brain death after severe traumatic brain injury: the role of systemic secondary brain insults. *Transplant Proc*. 2005; 37:1990-1992.

92. SATUR, CMR; MARTIN, W; DARRACOTT-CANKOVIC, S; MORRISON, J; WHEATLEY. An experimental method to induce variable patterns of brain death and myocardial injury. *Transplant Proc.* 1998; 30:211-13.

93. SHEEHY, E; CONRAD, S L.; BRIGHAM, LE; LORI, E; LUSKIN, R; WEBER, P, et al. Estimating the number of potential organ donors in the United States..*N Engl J Med*. August 2003; 349(7)667-674.

94. SHOEMAKER, WC. Comparison of the relative effectiveness of whole blood transfusions and various types of fluid therapy in resuscitation. *Crit Care Med*. 1976; 4:71-78.

95. SHOSKES, DA; SHAHED, AR; KIM, SUN. Delayed Graft Function. Influence on outcome and strategies for prevention. Urologic *Clinics of North America*. November 2001; 28(4):721-732.

96. SMITH, M. Physiologic changes during brain sten death – Lessons for management of the organ donor. *The Journal of heart and Lung Transplantation*. 2004; 23 (9S): 217S-222S.

97. STARZL, TE; MARCHIORO, TL; VONKAULLA, KN; HERMANN, G; BRITTAIN, RS; WADDELL, WR. Homotransplantation of the liver in humans. Surg *Gynecol Obstet*. 1963 Dec;117:659-76.

98. STEINBROOK, R. Organ Donation after Cardiac Death. *N Engl J Med.* 2007; 357(3):209-13.

99. STOCCHETTI, N; ZANIER, ER; NICOLINI, R; FAEGERSTEN, E; CANAVESI, K; CONTE, V; GATTINONI, L. Oxygen and carbon dioxide in the cerebral circulation during progression to brain death. *Anesthesiology* .2005; 103: 957-61.

100. SZABÓ, G. Physiologic changes after brain death. *J Heart Lung Transplant*. 2004 Sep; 23 (9S):S223-26.

101. _____.; BUHMANN, V; BÄHRLE, S; VAHL, CF; HAGL, S. Brain death impairs coronary endothelial function. *Transplantation*. 2002; 73(11):1846-1848.

102. _____; HEGER, U; MANDERA, S; BUHMANN, V; BÄHRLE, S; KOHL, B; HAGL, S. L-Argenine improves endothelial and myocardial function after brain death. *Transplantation.* 2006; 82 (1):108-112.

103. THALER, U; DEUSCH, E; KOZEK-LANGENECKER, SA. In *vitro* effects of gelatin solutions on platelet function: a comparison with hydroxyethyl starch solutions. *Anaesthesia.* 2005; 60 :554-59.

104. TREIB, J; BARON, JF; GRAUER, MT; STRAUSS, RG. An international view of hydroxyethyl starches. *Intensive Care Med*. 1999; 25:258-68.

105. TRUOG, RD; ROBINSON, WM. Role of brain death and the dead-donor rule in the ethics of organ transplantation. *Critical Care Medicine*. 2003;31(9):2391-2395.

106. UENO, T; ZHI-LI, C; ITOH, T. Unique circulatory responses to exogenous catecholamines after brain death. *Transplantation.* .2000; 70(3):436-440.

107. VAN DER HOEVEN, JAB; LINDELL, S; VAN SCHILFGAARDE, R; MOLEMA, G; TER HORST, GJ; PLOEG, RJ. Donor brain death reduces survival after transplantation in rat livers preserved for 20hrs. *Transplantation.* 2001; 72(10):1632-1636.

108. VARICODA, EY; FIGUEIREDO, LFP; CRUZ JR, RJ; SILVA, LE; SILVA, MR. Blood Loss after fluid resuscitation with isotonic or hypertonic saline for the initial treatment of uncontrolled hemorrhage induced by spleen rupture. *The Journal of Trauma Injury, Infection, and Critical Care*. 2003; 55: 112-117.

109. VICENT, JL; NAVICKIS, RJ; WILKES, MM: Morbidity in hospitalized patients receiving human albumin: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit. Care Med.* 2004; 32:2029-2038

110. WEIL, MH; TANG, W. Albumin versus crystalloid solutions for the critically ill and injured. *Crit Care Med.* 2004, 32 (10): 2154-56.

111. WIEDERMAN, CJ. Hydroxyethyl starch – can the safety problems be ignored? *Wien Kllien Wochenschr.* 2004 Sep; 116 (17-18):640-1.

112.WIJDICKS, EFM. The diagnosis of brain death. *N Engl J Med*. 2001; 344(16):1215-1221.

113.WILKES, MM; NAVICKIS, RJ: Patient survival after human albumin administration: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med*. 2001; 135: 149-164.

114.WOOD, K; BECKER, BN; MCCARTNEY, JG; D´ALESSANDRO, AM; COURSIN, BD. Current Concepts: Care of the Potential Organ Donor. *N Engl J Med*. 2004; 351(26):2730-2739.

115.ZHANG, SJ; SHI, JH; TANG, Z; WU, Y; CHEN, S. Protective effects of glycine pretreatment on brain-death donor liver. Heart Lung Transplant. 2004; Sep;23(9 Suppl):S223-6.

116.ZHANG, SJ; CHEN, S. The Influence of Brain Death on Liver in Rats. Transplant *Proc*. 2004; 36:1925-27.