BERNARDO MAZZINI KETZER

**Efeitos hemodinâmicos e metabólicos da evisceração abdominal no
transplante multivisceral modificado experimental**

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

Programa de Ciências em
Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Flávio Henrique Ferreira Galvão

**São Paulo
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Ketzer, Bernardo Mazzini

Efeitos hemodinâmicos e metabólicos da evisceração abdominal no transplante multivisceral modificado experimental / Bernardo Mazzini Ketzer. -- São Paulo, 2019.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Flávio Henrique Ferreira Galvão.

Descritores: 1. Transplante multivisceral
2. Transplante multivisceral modificado
3. Hemodinâmica 4. Isquemia 5. Reperusão 6. Modelos animais

USP/FM/DBD-074/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Primeiramente dedico esta tese a minha esposa Caroline, pela amizade e amor ao longo desses anos. Sua presença ao meu lado me incentiva constantemente a busca pela excelência. Muito obrigado pela compreensão e por ter proporcionado a minha maior alegria: nosso filho David, razão indiscutível das nossas vidas.

Aos meus pais, Roberto Ketzer e Maria de Lourdes Mazzini Ketzer. Muitíssimo obrigado por terem enraizado, no meu caráter, pilares extremamente fortes, baseados no respeito, hierarquia, disciplina e dedicação. Agradeço imensamente a minha educação e por terem me preparado para a Vida.

A minha irmã, Catarina. Meu anjinho que aprendi a valorizar e muito tem me ensinado diante de seu vasto conhecimento. Te agradeço muito por ser seu irmão. Minha sincera gratidão.

Aos irmãos que adquiri ao longo da Faculdade de Medicina: Guilherme Lozi Abdo, Marcelo Kawata, Gustavo Reis Rodrigues, Edson Fernandes Filho, Amauri Ferrari Paroni e Milton Orel. Pessoas com as quais vivenciei intensamente durante 6 anos e pude apreender ensinamentos constantes.

Agradeço a todos os Professores que tive ao longo da minha formação e que me lapidaram com caprichos e atenção para que hoje eu pudesse orgulhar cada um deles.

Agradecimento especial ao Mestre Dr. Prof. José Carlos Prates, uma referência mundial na área de Anatomia e que certamente me impulsionou para um aprimoramento ainda maior no conhecimento anatômico na Cirurgia Geral.

Meu enorme Respeito e Agradecimento aos animais utilizados no presente estudo.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Ruy Jorge Cruz Júnior idealizador desta tese. Sem sombra de dúvidas uma inspiração como Cirurgião. Sua dedicação, responsabilidade e conhecimentos impressionam e servem de exemplo aos seus discípulos. O laurel desta vitória é estendido a você, meu amigo. Minha eterna gratidão por me proporcionar a rara possibilidade de desenvolvimento acadêmico.

Ao Prof. Dr. Flávio Henrique Ferreira Galvão agradeço muito pela imensa contribuição científica, com seu conhecimento na área e pelo apoio nesta tese.

Ao Dr. Rodrigo Vincenzi por ter dividido comigo, ao longo dos anos, boa parte do seu conhecimento. Tenho orgulho de lhe chamar de Mestre.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Carneiro D'Albuquerque pela oportunidade de desenvolver esta tese, no setor sob sua chefia.

A Dra. Katia Ramos Moreira Leite pela ajuda na interpretação e leitura das lâminas histológicas deste experimento.

A Ana Maria de Mendonça Coelho pela execução e interpretação das análises da função hepática.

A Isac de Castro, pela dedicação na realização da análise estatística.

A Júnior Falcetti, pelas ilustrações realizadas com tanto primor e dedicação.

Meus agradecimentos aos amigos e colaboradores deste trabalho, que sempre se dispuseram a ajudar, Sra. Sueli Gomes, Sra. Elenice França Lucas, Sr. Nelson Correa Júnior, Sr. Richard Barbosa da Silva, Sr. Leandro e Sr. Roberto.

A todos os funcionários do LIM 37 e do Biotério da Divisão de Experimentação do Incor, pela ajuda e paciência durante todo o experimento.

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”*

(Francisco Cândido Xavier)

RESUMO

Ketzer BM. *Efeitos hemodinâmicos e metabólicos da evisceração abdominal no transplante multivisceral modificado experimental* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

INTRODUÇÃO: A falência intestinal constitui uma grave entidade patológica. Uma das opções para estes casos complexos, como a síndrome de Gardner e a dismotilidade intestinal, é o transplante multivisceral modificado (TxMvm). A literatura científica ainda carece de um modelo experimental animal para o TxMvm, além do estudo de seus efeitos hemodinâmico e metabólico. A análise foi feita em dois dos três tipos de TxMvm: na evisceração maior e no modelo de preservação esplênica. Essas técnicas levam a grandes modificações anatômicas e hemodinâmicas que, somadas ao processo de evisceração esplênica, contribuem para redução da pré-carga e consequentemente do débito cardíaco (DC). O objetivo geral é descrever um modelo de evisceração das duas técnicas utilizadas no TxMvm em porco. O específico é descrever e comparar as alterações hemodinâmicas e metabólicas sistêmicas e regionais da evisceração abdominal nestas duas técnicas. **MÉTODO:** Foram utilizados 14 suínos (Landrace), pesando de 28 a 30 kg, que foram anestesiados, submetidos à ventilação mecânica e monitorizados hemodinamicamente. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo 1 (n=8), submetido à evisceração completa dos órgãos intra-abdominais, com exceção do fígado, e grupo 2 (n=6), submetidos à mesma evisceração com preservação esplênica. As variáveis hemodinâmicas foram obtidas através de cateter na aorta torácica e um cateter de Swan-Ganz. A avaliação da perfusão esplênica foi realizada com cateteres posicionados nas veias porta e hepática, e através de fluxômetro ultra-sônico. A oferta, o consumo e as taxas de extração sistêmica, hepática e esplênica de oxigênio foram calculados por meio de fórmulas padrão. Amostras de histologia hepática para avaliação mitocondrial, de apoptose e de imunohistoquímica foram colhidas durante todo o protocolo experimental, assim como sangue para análises gasométrica e bioquímica. **RESULTADOS:** Embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos na análise transversal, na longitudinal a DO_2 apresentou diferença significativa no grupo 1 a partir do T120, e no grupo 2, a partir do T60. Houve queda sustentada do consumo de oxigênio (VO_2) em ambos os grupos. A extração de oxigênio hepático (TEO_2 hep) também decaiu, mas com recuperação em T180 no grupo 2, enquanto no grupo 1, o VO_2 hepático apresenta queda significativa. A variável S4 apresenta alteração significativa ao fim do estudo. Não houve diferença quanto às análises histológicas e imunohistoquímica. **CONCLUSÃO:** O modelo descrito nesta tese foi efetivo em observar as alterações hemodinâmicas, metabólicas e histopatológicas da evisceração em ambas as técnicas do TxMvm. A evisceração abdominal foi associada a alterações hemodinâmicas sistêmicas e regionais significativas. Apesar da redução do DC, os marcadores metabólicos e bioquímicos de lesão hepática permaneceram inalterados ao final do estudo.

Descritores: transplante multivisceral; transplante multivisceral modificado; hemodinâmica; isquemia; reperfusão; modelos animais.

SUMMARY

Ketzer BM. *Hemodynamic and metabolic effects after abdominal evisceration for experimental modified multivisceral transplantation* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

INTRODUCTION: Intestinal failure is a very severe pathology consequence of some diseases such as Gardner's syndrome and intestinal motility disorder. There are some treatment options, one of them is the modified multivisceral transplantation (TxMvm). There is no description in scientific literature about an experimental animal model for TxMvm and the study of its hemodynamic and metabolic effects. This assignment was done in two of the three types of TxMvm: in major evisceration and in splenic preservation model. These techniques lead to major anatomical and hemodynamic modifications that, together with the splanchnic evisceration process, contribute to reduction in preload and consequently cardiac output (CO). The general objective is to describe a model of evisceration of two techniques used in TxMvm in pork. The specific objective is to describe and compare the hemodynamic and systemic and regional metabolic changes of abdominal evisceration in these two techniques.

METHOD: Fourteen pigs (Landrace) weighing 28 to 30 kg were used, which were anesthetized, submitted to mechanical ventilation and monitored hemodynamically. The animals were randomly assigned to two groups: group 1 (n = 8), submitted to complete evisceration of intra-abdominal organs, with the exception of liver, and group 2 (n = 6), submitted to the same evisceration with splenic preservation. 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 O₂-derived variables were also calculated. Liver histological samples for mitochondrial evaluation, apoptosis and immunohistochemistry were collected throughout the experimental protocol.

RESULTS: Although there was no significant difference between the groups in the transversal analysis, in the longitudinal one, DO₂ (oxygen delivery) presented a significant difference in group 1 from T120, and in group 2, from T60. There was a sustained decrease in oxygen consumption (VO₂) in both groups. Hepatic oxygen extraction (TEO₂ hep) also declined, but recovered in T180 in group 2, whereas in group 1, hepatic VO₂ presented a significant decrease. Variable S4 presented a significant change at the end of the study. There was no difference regarding histological and immunohistochemical analyzes. **CONCLUSION:** The model described in this thesis was effective in observing the hemodynamic, metabolic and histopathological changes of evisceration in both TxMvm techniques. Abdominal evisceration was associated with significant systemic and regional hemodynamic changes. Despite the reduction in CO, the metabolic and biochemical markers of liver injury remained unchanged at the end of the study.

Descriptors: multivisceral transplantation; modified multivisceral transplantation; hemodynamics ischemia; reperfusion; models, animal.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE DESENHOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 FALÊNCIA INTESTINAL.....	3
1.2 TRANSPLANTES NO MUNDO.....	5
1.3 TIPOS DE TRANSPLANTE.....	8
1.4 AVANÇOS NA TÉCNICA.....	10
2 OBJETIVOS.....	20
3 MÉTODOS.....	21
3.1. ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO.....	21
3.2 EXPERIMENTO PILOTO.....	21
3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	22
3.4 PREPARAÇÃO EXPERIMENTAL.....	22
3.5 ACESSO VASCULAR E MONITORIZAÇÃO HEMODINÂMICA.....	23
3.6 LAPAROTOMIA E MONITORIZAÇÃO DO FLUXO ESPLÂNCNICO.....	25
3.7 TÉCNICA DE EVISCERAÇÃO DOS ÓRGÃOS SIMULANDO RECEPTOR DE TxMv.....	26

3.8 PARÂMETROS HEMODINÂMICOS.....	37
3.9 MEDIDAS DE TRANSPORTE DE OXIGÊNIO.....	38
3.10 VARIÁVEIS LABORATORIAIS.....	40
3.11 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	47
3.12 TÉRMINO.....	48
3.13 MÉTODO ESTATÍSTICO.....	49
4 RESULTADOS.....	50
5 DISCUSSÃO.....	66
5.1 CONTEXTUALIZANDO O LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO MÉDICA (LIM 37).....	67
5.2 EFEITOS HEMODINÂMICOS DURANTE PROCESSO DE EVISCERÇÃO ABDOMINAL.....	70
6 CONCLUSÃO.....	81
7 REFERÊNCIA.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS

aa.	artérias
AE	artéria esplênica
AHC	artéria hepática comum
AMI	artéria mesentérica inferior
AMS	artéria mesentérica superior
AST	aspartato-aminotransferase
ALT	alanino-aminotransferase
BE	excesso de Base
BH	balanço hídrico
BL	baseline
°C	graus célsius
cm	centímetros
CO ₂	dióxido de carbono
CaO ₂	conteúdo de oxigênio no sangue arterial
CAP	cateter artéria pulmonar
ChO ₂	conteúdo de oxigênio no sangue da veia hepática
CpO ₂	conteúdo de oxigênio no sangue da veia porta
DC	débito cardíaco
DPM	desvio padrão da média
DO ₂	oferta de oxigênio
DO ₂ esplanc	oferta esplâncnica de oxigênio
DO ₂ hepat	oferta hepática de oxigênio
DO ₂ sist	oferta sistêmica de oxigênio

EPM	erro padrão da média
EUA	Estados Unidos da América
ETE	ecocardiografia transesofágica
F	French
FAH	fluxo artéria hepática
FC	freqüência cardíaca
FK 506	tacrolimos
FVP	fluxo da veia porta
FVR	fluxo da veia renal
h	hora
Hb	hemoglobina
Hb _a	hemoglobina arterial
Hbh	hemoglobina no sangue da veia hepática
Hbp	hemoglobina no sangue da veia portal
Hbv	hemoglobina no sangue venoso misto
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HT	hematócrito
IAEP	índice de água extravascular pulmonar
IC	índice cardíaco
IL	infusão de líquidos
ITR	<i>Intestinal Transplant Registry</i>
IRVS	índice de resistência vascular sistêmica
IRVP	índice de resistência vascular periférica
IS	índice sistólico
IVSIT	índice de volume sanguíneo intratorácico

Kg	quilograma
LIM	laboratório de investigação médica
MH	monitorização hemodinâmica
min	minuto
ml	mililitro
mmHg	milímetro de mercúrio
NP	nutrição parenteral
NPP	nutrição parenteral prolongada
O ₂	oxigênio
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial do átrio direito
PAM	pressão arterial média
PAP	pressão artéria pulmonar
PCP	pressão capilar pulmonar
pH	potencial hidrogeniônico
PVC	pressão venosa central
PAPM	pressão artéria pulmonar média
POAP	pressão oclusão artéria pulmonar
pCO ₂	pressão parcial de dióxido de carbono
p _a CO ₂	pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial
p _p CO ₂	pressão parcial de dióxido de carbono no sangue da veia porta
PvCO ₂	pressão parcial de dióxido de carbono no sangue venoso venoso misto
RVP	resistência vascular pulmonar

RVS	resistência vascular sistêmica
SaO ₂	saturação arterial de oxigênio
ShO ₂	saturação de oxigênio no sangue hepático
SpO ₂	saturação de oxigênio no sangue da veia porta
SvO ₂	saturação venosa de oxigênio
ScvO ₂	saturação de oxigênio no sangue venoso misto
TBVI	total blood volume index
TC	tronco celíaco
TEO ₂	taxa extração de oxigênio
TEO ₂ esplanc	taxa de extração esplâncnica de oxigênio
TEO ₂ hepat	taxa de extração hepática de oxigênio
TEO ₂ sist	taxa de extração sistêmica de oxigênio
TFI	transplante fígado / intestino
TI	transplante de intestino
TxMv	transplante multivisceral
TxMvm	transplante multivisceral modificado
VD	ventrículo direito
VE	ventrículo esquerdo
VO ₂	consumo de oxigênio

VO ₂ esplanc	consumo esplâncnico de oxigênio
VO ₂ hepat	consumo hepático de oxigênio
VO ₂ sist	consumo sistêmico de oxigênio
VMI	veia mesentérica inferior
VMS	veia mesentérica superior
VP	veia porta
vv.	veias
VVS	variação de volume sistêmico

LISTA DE DESENHOS

DESENHO 1: Evidenciando o aspecto final da primeira fase de evisceração em ambos os grupos	30
DESENHO 2: Evidenciando aspecto da segunda fase de evisceração no Grupo1	31
DESENHO 3: Evidenciando aspecto da segunda fase de evisceração no Grupo 2	32
DESENHO 4: Evidenciando aspecto final da terceira fase de evisceração no Grupo 1	35
DESENHO 5: Evidenciando aspecto final da terceira fase de evisceração no Grupo 2	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Estrutura química do tacrolimus (FK 506).....	3
FIGURA 2: Terminologia dos tipos de transplantes.....	9
FIGURA 3: Exemplificação dos tipos de TxMvm.....	10
FIGURA 4: O cateter de artéria pulmonar.....	12
FIGURA 5: Monitorização vascular do hilo hepático.....	26
FIGURA 6: Dissecção dos dois principais troncos arteriais abdominais.....	28
FIGURA 7: Realizada mobilização medial e secção da terceira porção duodenal.....	29
FIGURA 8: Canulação da veia mesentérica inferior com tubo siliconizado.....	29
FIGURA 9: Aspecto final, in loco, da 2 fase de evisceração no Grupo 2.....	33
FIGURA 10: Realizado término da evisceração do grupo 1, com destaque para AHC, reparada no fio amarelo, VP e a canulação da via biliar.....	34
FIGURA 11: Microfotografia exemplificando os animais do grupo 1 (animal 7).	
A) Coloração de hematoxilina e eosina (200x).	
B) Avaliação de apoptose pela técnica de TUNEL (400x).....	64
FIGURA 12: Microfotografia exemplificando os animais do grupo 2 (animal 12).	
A) Coloração de hematoxilina e eosina (200x).	
B) Avaliação de apoptose pela técnica de TUNEL (400x).....	65

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1:	Informações cedidas ao Intestinal Transplant Registry (ITR) pelos centros transplantadores.....	5
GRÁFICO 2:	Distribuição no mundo do número de transplantes realizados.....	6
GRÁFICO 3:	Relação entre oferta, consumo e taxa de extração de oxigênio.....	17

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Distribuição dos animais em cada grupo.....	22
TABELA 2: Os métodos utilizados na determinação da bioquímica correspondente.....	41
TABELA 3: Os métodos utilizados na determinação dos tempos da coagulação e do fator V de Leiden	41
TABELA 4: Comparação ao longo do tempo no grupo um e no grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis hemodinâmicas.....	50
TABELA 5: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto aos fatores intra operatórios.....	51
TABELA 6: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria arterial.....	52
TABELA 7: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria venosa.....	53
TABELA 8: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria portal.....	54

TABELA 9: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria hepática.....	55
TABELA 10: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de coagulação.....	56
TABELA 11: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de bioquímica.....	57
TABELA 12: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis da série vermelha.....	58
TABELA 13: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis da série branca.....	59
TABELA 14: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de citologia e histologia.....	60
TABELA 15: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 as variáveis hemodinâmicas sistêmicas.....	61
TABELA 16: Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 as variáveis hemodinâmicas hepáticas.....	62

TABELA 17: Distribuição dos achados hematológicos.....	63
--	----

1. INTRODUÇÃO

O pioneirismo nas publicações experimentais em modelos animais de transplante de intestino (TI) e multivisceral (TxMv) deve-se respectivamente a Lillehei et al. e Starzl et al. há mais de 50 anos.^{1,2} Este último descreveu a técnica cirúrgica com a retirada do fígado, estômago, duodeno, pâncreas, baço, intestino delgado e intestino grosso substituindo-os por enxerto ortotópico com os mesmo órgãos cuja irrigação arterial era mantida por um pedículo que preservava o tronco celíaco (TC) e a artéria mesentérica superior (AMS). Ambos os experimentos mostraram que a técnica era factível, tanto com o transplante isolado de intestino ou combinado com outros órgãos.

Basicamente esses trabalhos, somados aos experimentos de Monchik e Russell, que descreveram a técnica de transplante de intestino delgado em ratos, pavimentaram o caminho da investigação imunológica, imunossupressão, preservação e função do enxerto assim como os eventos metabólicos relacionados a esse transplante.³

Nos anos subsequentes, no Brasil, o Prof. Massayuki Okumura realizou o segundo e o terceiro transplante de intestino isolado publicado do mundo no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), mostraram resultados desanimadores com baixa sobrevivência dos pacientes. Esses insucessos foram atribuídos a complicações infecciosas, à técnica cirúrgica complexa e ao incompleto conhecimento imunológico.^{4,5,6}

Após a introdução da ciclosporina, em 1978, por Calne et al., ressurgiu o interesse no TI.⁷ Cohen et al, na Universidade de Toronto em 1986, realizaram o primeiro TI utilizando a ciclosporina como imunossupressor.⁸ O primeiro relato de TxMv ocorreu em uma criança de 6 anos com intestino curto e comprometimento hepático por uso crônico de terapia nutricional parenteral, porém esta faleceu horas depois por hemorragia maciça. Grant et al. realizaram um transplante combinado de fígado e intestino (TFI) em função da paciente apresentar síndrome do intestino curto por uma trombose mesentérica com deficiência de anti-trombina III.⁹

Com ação imunossupressora mais potente que a ciclosporina, o novo agente imunossupressor tacrolimos (FK 506) (Figura 1) apresentou resultados experimentais semelhantes aos transplantes de vísceras sólidas^{10,11} sendo um marco de transformação da era experimental para a implementação clínica.¹² A partir da década de 90, o transplante de intestino passou para uma prática rotineira em centros especializados nos EUA e na Europa no tratamento dos pacientes com falência intestinal com complicações da nutrição parenteral total como: duas ou mais infecções do cateter de NP, doença hepática crônica ou cirrose colestática decorrente da NP, obstrução de dois ou mais acessos venosos para o cateter de NP dos seis acessos possíveis, baixo índice de crescimento em crianças, tumores neuroendócrinos restritos ao abdôme, desidratação e desequilíbrio hidroeletrolítico em pacientes com falência intestinal, mesmo com a reposição adequada.

Figura 1: Estrutura química do tacrolimus (FK 506)

1.1 FALÊNCIA INTESTINAL

O termo falência intestinal foi primeiramente citado por Fleming e Remington em 1981. Desde então, inúmeras definições passaram a ser adotadas para classificá-la. Recentemente, no Consenso Europeu da Sociedade de Coloprocto como a incapacidade do trato intestinal de um indivíduo em manter o seu status nutricional, hidratação e o balanço hidroeletrólítico adequados¹³. Situação extremamente complicada, em que na década de 50 era praticamente incompatível com a vida.¹⁴ A nutrição parenteral (NP) surgiu no final dos anos 60¹⁵ e passou a ser a primeira linha de terapia nos pacientes com disfunções gastrointestinais graves.¹³ Apesar dos avanços no manejo desses pacientes, a sua morbimortalidade era alta, principalmente nos dependentes de nutrição parenteral prolongada.

Em 1992, nos Estados Unidos da América (EUA), 40.000 pacientes recebiam NP, 152.000 com nutrição enteral domiciliar e estimativas de que 225.000 pacientes necessitariam de uma dessas opções nutricionais.¹³ Como o uso dessa terapia se tornou frequente, as complicações relacionadas ao uso do cateter venoso central e disfunção de outras vísceras digestivas se tornaram frequentes, elevando os custos deste procedimento.

Os gastos anuais nos EUA, por paciente, variavam de 100.000 a 250.000 dólares com os profissionais de saúde, mais gastos hospitalares relacionados a NP que eram de 10.000 a 196.000 dólares. A esses custos, é acrescentados os custos de suprimentos e soluções de infusão que variavam de 75.000 a 122.000 dólares.^{16,17}

Outra complicação frequente da nutrição parenteral prolongada (NPP) é o desenvolvimento de doença hepática. Uma vez estabelecida a cirrose, a taxa de sobrevivência em 1 ano é de 20 - 30%,¹⁴ sendo que essa progressão de disfunção para cirrose é mais rápida nos pacientes pediátricos, se comparados com adultos.

A indicação de transplante, e quais órgãos serão incluídos, difere conforme a doença de base, a existência do acometimento hepático, o número de cirurgias abdominais e a qualidade dos outros órgãos abdominais.¹⁸ Estima-se que de 2 a 4 pessoas por milhão da população adulta apresentará falência intestinal,¹⁹ e destes, 10 a 15 % serão candidatos a TI ou TxMv. Já na esfera pediátrica, esse número é de 2 a 6,8 indivíduos por milhão.^{20,21,22}

1.2 TRANSPLANTES NO MUNDO

A *Intestinal Transplant Association* coordena o *Intestinal Transplant Registry*²³ (ITR), que convida os centros transplantadores para fornecer informações (Gráfico 1), a cada dois anos, dos TI realizados desde 1985. Nos dois anos subsequentes a 2008, é possível observar uma queda gradativa do número de TI, principalmente na população pediátrica, conforme figura abaixo.

Gráfico 1: Informações cedidas ao Intestinal Transplant Registry (ITR) pelos centros transplantadores.

Segundo esse registro, 82 centros realizaram 2.887 transplantes em 2.699 pacientes até fevereiro de 2013, com uma cobertura de 95% do casos

transplantados no mundo. A maior contribuição é proveniente de 10 programas: Clarian Transplant Center (Indianapolis), Georgetown University Hospital (Washington), Mount Sinai Hospital (New York), SickKids Hospital (Toronto), University of California (Los Angeles), University of Miami (Miami), University of Nebraska (Omaha), University of Paris (Paris), University of Pittsburgh Medical Center (Pittsburgh) e Cleveland Clinic (Ohio).

Gráfico 2: Distribuição nos continentes do número de transplantes realizados.

Com exceção dos EUA, o volume de cada centro ainda permanece pequeno. Na última década, houve um aumento nos registros da América do Sul, refletindo maior interesse na área acrescido de uma maior experiência cirúrgica. (Gráfico 2).

Como já citado, o Brasil foi um dos pioneiros mundiais em TI, com dois casos realizados nos anos 60 pelo lendário Prof. Masayuki Okumura, do HC-FMUSP, obtendo sobrevivência de 12 dias, o que foi um dos recordes para época. Em 2000 foi reiniciado

o interesse por esse tipo de transplante, com um caso de TI realizado na Santa Casa de São Paulo. A paciente teve sobrevivência de 100 dias e faleceu por sepse abdominal.²⁴

Entre 2004 e 2006 foram realizados três casos TI no Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto. Os dois primeiros pacientes tiveram sobrevivência 5 e 10 dias e faleceram devido a infarto do miocárdio e choque séptico respectivamente. O último paciente apresentou trombose da veia mesentérica superior no pós-operatório imediato, sendo que o enxerto foi removido e o paciente retornou a nutrição parenteral total.²⁵

Em 2012, o Hospital Israelita Albert Einstein realizou o primeiro TxMv do Brasil e posteriormente realizou até final de 2018 mais sete TxMv e TI isolado, porém, os resultados ainda não foram publicados.

Em 2014 o HC-FMUSP realizou o primeiro TxMv em Hospital público e em 2015, o segundo. Os pacientes sobreviveram por 7 e 30 dias e faleceram por falência de múltiplos órgãos após hemorragia abdominal incontrolável e falência hepática aguda, respectivamente.²⁶ Em 2017 foi realizado TI que está com sobrevivência de 14 meses, sendo a maior, neste tipo de transplante no Brasil.²⁷ Em Fevereiro de 2019 foi realizado outro TI e até o presente momento apresenta boa evolução clínica.

O Ministério da Saúde vem financiando e apoiando essas modalidades de transplantes no Hospital Israelita Albert Einstein, Hospital Sírio Libânès e HC-FMUSP.

1.3 TIPOS DE TRANSPLANTE

A terminologia de TI e TxMv existe há mais de 50 anos, entretanto, o termo transplante de fígado/intestino é recente.²⁸ A nomenclatura é baseada nos órgãos explantados. O fígado, o intestino e o estômago definirão a nomenclatura, com o intestino sendo o órgão presente em todos os enxertos. Os dois primeiros tipos de transplantes citados abaixo são auto-explicativos, já o transplante multivisceral incluirá o estômago, com a possibilidade ou não de incluir o fígado do doador, e isto o definirá “full” ou modificado. (Figura 2)

1- Transplante isolado de intestino (TI): pacientes com falência intestinal com preservação das funções hepáticas, pancreáticas e do estômago.

2- Transplante fígado / intestino (TFI): pacientes com falência intestinal que desenvolveram disfunção hepática por uso prolongado da nutrição parenteral.

3.1- Transplante multivisceral (TxMv): pacientes com falência intestinal e hepática e que não podem ser submetidos a um transplante fígado/intestino por uma patologia complexa abdominal associada. A composição do enxerto inclui estômago, complexo duodenopancreático associado ao fígado, intestino delgado, podendo ou não incluir o cólon.

3.2- Transplante multivisceral modificado (TxMvm): pacientes com falência intestinal porém com **função hepática preservada**. Pacientes acometidos pela síndrome de Gardner e pseudo-obstrução intestinal.

	I-Intestine	II-Liver-Intestine	III-Multivisceral	
			Full	Modified
Tipos principais
			Estômago+Duodeno+ Pâncreas+ Intestino+ Fígado	Estômago+Duodeno Pâncreas+ Intestino

American Journal of Transplantation. 2011,11:184-185

Figura 2: Terminologia dos tipos de transplantes.

A consideração precoce de transplante antes do desenvolvimento da falência intestinal ou da progressão de uma patologia abdominal mais grave tem sido o objetivo nos dias atuais. Diversas publicações evidenciam um aumento no número de possíveis candidatos^{20,29,30,31,32}, que deixariam a lista de espera por transplantes combinados e obteriam uma melhor qualidade de vida e resultado final.³⁰

1.4 AVANÇOS NA TÉCNICA

Ocorreram modificações e evoluções técnicas no TxMv em função dos esforços diante de patologias abdominais extremamente complexas²⁰, como exemplo, a pseudo-obstrução intestinal e a síndrome de Gardner. Na Figura 3 destacam-se 3 técnicas³⁴.

Na primeira (A), a mais comum, o receptor será submetido à ressecção de todo o intestino delgado, grosso, estômago, baço e complexo pancreatoduodenal, utilizada, por exemplo, nos casos de dismotilidade intestinal. Nas outras duas, preserva-se o baço, cujo objetivo é reduzir o risco de doenças linfoproliferativas pós transplante e de anemia hemolítica^{35,36} aumentando a sobrevivência a longo prazo.^{37,38} Na terceira técnica (C), a circulação espleno-portal é preservada durante o implante do enxerto, eliminando a necessidade de reconstrução biliar^{14,37} e aumentando a massa de ilhotas pancreáticas com a preservação do pâncreas nativo.

Figura 3: Exemplificação dos tipos de TxMvm: A) Técnica que apresenta a maior evisceração abdominal. B) Manutenção de parte do fluxo portal pela veia esplênica. C) Preservação esplênica e do complexo duodeno pancreático.

Todas essas alterações anatômicas modificam a hemodinâmica micro e macro regional, sendo esperado que os pacientes candidatos ao TxMvm sigam uma tendência à instabilidade hemodinâmica durante o procedimento, mesmo porque grande parte deles apresentam condições como baixa resistência vascular sistêmica e redução da pressão arterial, que são típicas da circulação hiperdinâmica.

Na verdade, o quadro hiperdinâmico, em que há elevação do débito cardíaco, está sobreposto à hipovolemia real durante a evisceração dos órgãos abdominais, com consequente redução do índice de volume sanguíneo total (*TBVI – total blood volume index*).³⁹

A monitorização hemodinâmica (MH), portanto, é um importante arsenal para o cuidado do paciente gravemente enfermo. O conhecimento da função cardiovascular e o seguimento das diversas intervenções terapêutica tornam as técnicas de MH um componente fundamental para o desfecho destes pacientes,^{40,41} principalmente daqueles submetidos às cirurgias de grande porte, como é o caso do TxMvm.

O TxMvm ainda permanece desafiador do ponto de vista cirúrgico e anestésico, já que, durante as suas diversas fases, ocorrem modificações no quadro hemodinâmico, que podem impactar sobremaneira no desfecho do procedimento.⁴² O conhecimento do fluxo sanguíneo do doente grave é crucial, pois o débito cardíaco (DC) é o grande determinante do transporte de oxigênio para os tecidos e sua determinação é útil para estabelecer o diagnóstico, orientar a terapia e estabelecer o prognóstico.⁴³ Consequentemente, o sucesso cirúrgico do TxMvm depende claramente da estabilidade hemodinâmica durante a cirurgia, que se traduzirá finalmente em adequação satisfatória da oferta de oxigênio para os tecidos a serem implantados.⁴²

A causa de morte nesses pacientes está associada principalmente ao alto índice de sangramento e às alterações macro hemodinâmicas e metabólicas causadas pela evisceração dos órgãos abdominais.^{44,45} Particularmente em pacientes que passam por hipovolemia, é necessário a otimização da pré-carga, evitando-se também o edema pulmonar, particularmente na fase em que o fluxo portal será proveniente apenas da veia esplênica, quando a síndrome de reperfusão pode ocorrer.⁴⁶

Deste modo, é imperioso monitorizar de forma fidedigna as variáveis do status circulatório do paciente durante todo o transplante, com um refinamento que, muitas vezes, não é possível apenas por meios clínicos.^{47,48,49,50} Várias são as formas de se obter o controle dos parâmetros cardiovasculares,⁴² porém o cateter de artéria pulmonar (CAP) ainda permanece como método padrão-ouro para este fim.⁵¹

Figura 4: O cateter de artéria pulmonar

O cateter de artéria pulmonar (CAP) (Figura 4), introduzido no início dos anos 1970, trata-se de uma técnica de MH sem propriedades terapêuticas. Embora invasivos, os CAPs são excelentes ferramentas diagnósticas e, quando considerados neste contexto, provêm dados muitas vezes difíceis de serem obtidos por outros meios.

Os principais dados que são aferidos através do cateter de Swan-Ganz, ou CAP, podem ser observados diretamente ou obtidos a partir de gasometrias ou através da termodiluição. Outras informações são derivadas de cálculos.⁵²

Dados obtidos pelo CAP

1. Observados

- a. PA / PAM – pressão arterial/ pressão arterial média**
- b. PAD / PVC – pressão venosa central/ pressão de átrio direito**
- c. PAP / PMAP – pressão de artéria pulmonar/ pressão média de artéria pulmonar**

2. Reproduzidos

- a. PAOP – pressão de oclusão da artéria pulmonar – infla-se o balão para obtê-la**
- b. SvO₂ – saturação venosa de oxigênio – aspira-se lentamente sangue arterial da artéria pulmonar (lúmen distal)**
- c. DC – débito cardíaco – obtido através da técnica de termodiluição**

3. Derivados

- a. Dinâmica cardiovascular**
- b. Dinâmica de oxigênio**

A saturação de oxigênio no sangue venoso misto de oxigênio (ScvO₂) é obtida através da drenagem de sangue da via distal do CAP, realizando a mensuração da saturação de oxigênio. A SvcO₂ e a saturação venosa de oxigênio (SvO₂) são

utilizadas para determinar o balanço entre a oferta e o consumo de oxigênio pelo organismo. A queda na saturação de oxigênio sugere desequilíbrio entre a oferta e a necessidade teciduais,⁵³ revelando ser importante marcador da condição circulatória. Mas a avaliação global do quadro clínico do paciente deve ser considerada, incluindo o seu DC atual, a função orgânica de forma geral e os níveis de lactato. Um paciente com DC baixo, mas com ScvO₂ de 70% e concentração de lactato normal indica um DC provavelmente suficiente para o paciente em questão.⁵⁴

Um método útil para avaliar esta situação é o cálculo do consumo de oxigênio (VO₂) pelo método indireto de Fick, a partir do DC, da [Hb] (concentração de hemoglobina) e da diferença entre as saturações de oxigênio entre artéria e veia:

$$VO_2 = DC \text{ (L/min)} \times [Hb] \text{ (g/L)} \times 1,36 \times (\text{saturação O}_2 \text{ arterial} - \text{saturação O}_2 \text{ venosa})$$

O valor de VO₂ é expresso em mL/min e 1,36 é a quantidade de O₂ por grama de hemoglobina. Valores normais variam entre 200 e 300 mL/min, dependendo da superfície corpórea e da atividade metabólica basal.⁵⁴

A pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP), assim como o volume diastólico final do ventrículo direito (VDFVD) são medidas que estimam a pré-carga, sendo que a primeira avalia a pré-carga do ventrículo esquerdo e a segunda, uma variável volumétrica que avalia a pré-carga do ventrículo direito, mas esta última não expressa é pelo CAP.⁴⁰

A POAP é comumente utilizada para acessar a pressão venosa pulmonar e a pressão atrial esquerda, que também reflete a pressão diastólica do ventrículo esquerdo na ausência de obstrução da válvula mitral, sendo um indicador da potencialidade de edema pulmonar.⁵⁴

A pressão venosa central (PVC) indica a interação entre a função cardíaca e o retorno venoso. Quando utilizada em conjunto com a POAP, pode-se diferenciar a disfunção de ventrículo esquerdo (VE) da disfunção de ventrículo direito (VD).⁵⁴

A pressão de artéria pulmonar (PAP) é um indicador da pré-carga do coração direito e pode alertar para sinais de hipertensão pulmonar. O coração direito também pode ser avaliado quanto à sua capacidade de gerenciar pressões elevadas, observando-se o seu DC e a PVC. Se a PVC for baixa e o DC normal, o coração direito tolera bem a carga. Mas, se a PVC aumentar e o DC cair, existe um sinal de mau prognóstico quanto ao funcionamento das câmaras direitas.⁵⁴

Embora se assuma que a pressão do átrio direito (PAD) e a POAP representem a pré-carga do VD e do VE, devemos observar que a verdadeira pré-carga é o volume diastólico final do ventrículo. Volumes ventriculares são difíceis de serem determinados à beira-leito e, portanto, as medidas da PAD e da POAP são usadas para estimar os volumes de enchimento.⁵²

A compreensão das diferenças entre a função do VD e do VE é clinicamente importante. Durante a terapia de expansão volêmica, para um dado aumento do índice cardíaco, a pressão de enchimento do VD aumenta bem menos que a do VE, devido à própria diferença de complacência entre ambos. Quando o índice cardíaco eleva-se de

15 mL para 40 mL, a PAD (pressão de enchimento do VD) aumenta de 5 para 10 mmHg. Entretanto, a POAP (pressão de enchimento do VE) é elevada de 15 para 30 mmHg, podendo resultar em edema pulmonar.⁵²

Todas as variáveis estudadas que podem ser obtidas através do uso do CAP têm o propósito de permitir ao médico a adequação correta do status circulatório do paciente. O principal propósito da circulação sanguínea é a entrega apropriada da quantidade de oxigênio e nutrientes necessários aos tecidos, de forma a mantê-los nutridos, além de remover seus metabólitos. A DO_2 é determinada pelo produto entre o DC, a concentração de hemoglobina ([Hb]) e a saturação dessa hemoglobina, sendo a última dependente da pressão parcial de oxigênio (pO_2) e de uma constante (K) que dá a capacidade de carreamento da hemoglobina.⁵⁴

$$DO_2 = DC \times [Hb] \times \text{saturação de } O_2 \times K$$

O valor de K varia na literatura entre 1,34 e 1,39. Esta simples equação fornece três variáveis, as quais podem aumentar ou reduzir a DO_2 . A manipulação da hemoglobina não é tão vastamente importante, assim como a variação da concentração de oxigênio (por exemplo, uma elevação da saturação de O_2 de 85 para 100% apenas aumenta a DO_2 em 18%; e a elevação da [Hb] de 90 g/L para 100g/L é capaz de elevar a DO_2 em somente 11%). Portanto, conclui-se ser evidente que o DC é a principal variável que pode ser manipulada, objetivando maiores mudanças na DO_2 . A monitorização hemodinâmica invasiva do DC é fundamental durante o transplante de

órgãos, particularmente devido à necessidade de transfusão maciça e à deterioração hemodinâmica potencial destes pacientes.⁵⁵

É importante ressaltar que a monitorização passa pelo estudo de suas variáveis macro e micro hemodinâmicas. O desequilíbrio entre a DO_2 e o VO_2 contribui para a disóxia celular (Gráfico 3). A demanda metabólica periférica pode se encontrar balanceada ou não, sendo dependente de valores considerados relativos, e não absolutos.

Gráfico 3: Relação entre oferta, consumo e taxa de extração de oxigênio.

O gráfico acima indica que, quando se reduz progressivamente a DO_2 , eleva-se a sua taxa de extração (TEO_2). A DO_2 crítica é a mínima oferta de oxigênio na qual a homeostase se mantém, até que ocorra uma queda abrupta do VO_2 , quando se inicia o metabolismo anaeróbico, já que na periferia não se encontra a concentração adequada de oxigênio. Portanto, neste ponto observa-se a elevação do lactato.

Podemos avaliar a queda da oferta de oxigênio em diversos cenários clínicos, como durante a redução da pressão arterial, a diminuição do débito urinário, ou quando

as extremidades do paciente estão frias e com tempo de enchimento capilar elevado. Esse quadro também pode ser visto ao observarmos elevação do lactato, queda da ScvO_2 , acidose ou aumento do gap de CO_2 .

A perfusão tecidual pode ser estudada através de métodos como o *clearance* de lactato, o estudo da $\text{SvcO}_2 / \text{SvO}_2$, a TEO_2 e o delta pCO_2 (pressão parcial de dióxido de carbono).

A saturação venosa mista (SvO_2 - amostra de sangue venosa proveniente da veia cava superior, ou seja, dos membros superiores e região cefálica) deve ser maior que 70% para indicar boa perfusão. Já a saturação venosa central (ScvO_2 - amostra de sangue da artéria pulmonar, portanto, amostra de todo o corpo) esperada é maior que 65%. Quanto maior a taxa de extração de oxigênio ($\text{TEO}_2 > 30\%$), menor é o valor esperado de $\text{SvO}_2 / \text{SvcO}_2$.

O valor baixo de ScvO_2 nem sempre está relacionado exclusivamente à má perfusão tecidual, mas pode ser encontrado em casos de redução da oferta de oxigênio (como anemia, sangramentos, hipovolemia e queda da saturação de O_2), ou em situações em que ocorre o aumento do consumo de O_2 (por exemplo: dor, febre).

O uso do delta pCO_2 baseia-se no fato de que, durante a hipóxia celular, há aumento na produção de CO_2 , elevando o seu conteúdo no sangue venoso. A diferença entre pCO_2 arterial e pCO_2 venoso maior que 6 sugere, portanto, a existência de hipóxia celular. A sua utilização, entretanto, está validada para casos de hipóxia isquêmica (em que há redução do fluxo sanguíneo ou do DC), e não nas anêmicas (baixa saturação de

hemoglobina) ou hipoxêmicas (baixa concentração de oxigênio). O delta PCO_2 é, portanto, um marcador de índice cardíaco.

Devemos lembrar que a evisceração dos órgãos intra peritoneais do receptor consiste na dissecação dos 3 principais troncos arteriais abdominais, com preservação apenas do suporte arterial hepático e esplênico. O grande problema deste procedimento seria a interrupção parcial do fluxo venoso portal com possível efeito deletério ao parênquima e função hepática. Além disso, a evisceração esplâncnica poderia reduzir drasticamente o componente intravascular, comprometendo a pré-carga, e consequentemente o débito cardíaco.

A avaliação hemodinâmica hepática e sistêmica não foi ainda estudada neste tipo de procedimento. Desta forma, acredita-se que a realização de um estudo experimental, em animais de grande porte, poderia trazer informações fundamentais para o manejo destes pacientes submetidos as duas primeiras técnicas (A e B) de evisceração no TxMvm citadas acima. (Figura 3)

2. OBJETIVO

OBJETIVO GERAL: Descrever modelo de evisceração em porco das técnicas de evisceração maior e de preservação esplênica utilizadas no transplante multivisceral modificado.

OBJETIVO ESPECÍFICO: Descrever os efeitos hemodinâmicos e metabólicos ,sistêmicos e regionais, da evisceração abdominal das 2 técnicas citadas no transplante multivisceral modificado em porco.

3. MÉTODO

O estudo foi desenvolvido no Serviço de Apoio à Pesquisa e Experimentação Animal 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, após aprovação pela Comissão Científica do Departamento de Cardiopneumologia e pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.1 - ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 14 suínos (Landrace), machos e fêmeas, pesando de 28 a 30 kg, adquiridos de criadouros próximos à cidade de São Paulo e encaminhados à Divisão de Cirurgia Experimental no dia anterior ao experimento. Foram submetidos a um período de jejum de 12 horas, tendo os animais livre acesso à água.

3.2 - EXPERIMENTO PILOTO

Foi realizado um experimento piloto com 05 porcos, com peso de $24 \pm 1,3$ kg (média $\pm$ EPM), para padronização técnica e estabelecimento do protocolo experimental definindo a metodologia de evisceração dos órgãos.

3.3 - GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram randomizados aleatoriamente em dois grupos experimentais, conforme demonstrado na tabela 1 e submetidos, cada grupo, a uma das duas técnicas utilizadas de evisceração do TxMvm.

GRUPO 1	GRUPO 2
N = 8	N = 6

Tabela 1: Distribuição dos animais em cada grupo.

3.4 - PREPARAÇÃO EXPERIMENTAL

3.4.1- ANESTESIA

A padronização anestésica perante todos os animais constituiu da administração de Quetamina (Ketamin-S®, Cristália) na dose de 5 mg/kg e Midazolan (Dormire®, Cristália) na dose de 0,25 mg/kg, ambos administrados na mesma seringa, pela via intramuscular, como medicação pré-anestésica. O acesso venoso foi estabelecido com a cateterização da veia marginal da orelha com cateter vascular de calibre 20 (BD Insytetm).

A indução anestésica foi realizada com aplicação de propofol (Provine® 1% - Cláris) na dose de 5 mg/kg e um bolus de fentanil de 0,5 mg/kg (Citrato de fentanila - Cristália®), ambos por via endovenosa. Os animais foram intubados com sonda

endotraqueal de diâmetro 6,5, sendo a manutenção anestésica feita com isoflurano (Isoforine®, Cristália) com concentração no ar expirado de 1 a 4 em 50% de oxigênio em circuito circular fechado em aparelho de anestesia inalatória (Fuji Maximus, Takaoka, São Paulo, SP, Brasil). O pancurônio (Pancuron®, Cristália), foi administrado de forma contínua, na dose de 0,04 mg/kg/min, para o bloqueio neuromuscular e realização da ventilação controlada. Para a complementação analgésica durante todo o procedimento foi administrado uma infusão contínua de fentanil numa dose de 0,075 mg/kg/min.

A frequência respiratória foi ajustada para manter a PaCO₂ entre 35 e 45 mmHg. No decorrer do preparo cirúrgico, a temperatura central foi mantida entre 36-37°C com a utilização de um colchão térmico e os animais receberam Ringer Lactato 20ml/kg/h para compensar as perdas relacionada ao ato cirúrgico.

3.5 ACESSO VASCULAR E MONITORIZAÇÃO HEMODINÂMICA

Todo procedimento cirúrgico foi realizado com material esterilizado. Os animais foram posicionados em decúbito dorsal, em placas metálicas, com as patas fixas às laterais e cobertos com campos cirúrgicos estéreis, expondo-se apenas a região inguinal direita, para dissecções e canulações da artéria e veia femorais com cateter de polietileno – PE240.

O cateter introduzido pela veia femoral direita foi posicionado na veia cava inferior, abaixo das veias renais, para infusão soluções anestésicas e solução salina isotônica 20ml/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 colocado em direção à aorta torácica para mensuração contínua da pressão arterial média (PAM) e para a coleta de amostras de sangue arterial.

Através da veia jugular externa um cateter de Fogarty 5F foi inserido até a veia hepática para coleta de sangue venoso hepático e sua posição foi confirmada mediante palpação durante a laparotomia. Também por essa via, um cateter de Swan-Ganz com fibra óptica 93A-131H-7F (Baxter Edwards Critical Care, Irvine, CA, EUA), cuja extremidade distal foi posicionada na artéria pulmonar, guiada pela análise das curvas de pressão.

Este cateter é utilizado para mensuração da pressão média da artéria pulmonar (PMAP), pressão de oclusão da artéria pulmonar (PAOP), pressão do átrio direito (PAD) e para a coleta de amostras do sangue venoso misto da artéria pulmonar. O mesmo cateter foi empregado para mensuração contínua da saturação de oxigênio venoso misto (OXIMETRIX 3 SO₂/CO Computer, Abbott Critical Care Systems) e 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 3 ml de solução salina a 0,9%.

A média de três injeções, com variação inferior a 10%, foi considerada como débito cardíaco médio. Os cateteres foram conectados a transdutores de pressão (Transpac Disposable Transducer, Abbott, Chicago, IL, EUA) e conectados a um monitor modular multiparamétrico de parâmetros fisiológicos (Modelo DX-2020, DIXTAL Biomédica Indústria e Comércio Ltda, Manaus, AM, Brasil) para registro contínuo da oximetria (SpO₂), frequência cardíaca e dos traçados e níveis pressóricos.

3.6 LAPAROTOMIA E MONITORIZAÇÃO DO FLUXO ESPLÂNCNICO

O acesso à cavidade abdominal foi obtido por laparotomia mediana xifo-púbica. Inicialmente, realizou-se dissecação da veia porta, artéria hepática e veia renal direita para o posicionamento de fluxômetros ultra-sônicos (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, EUA) para medida contínua do fluxo nesses vasos (T206 Small animal blood flowmeter – Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, EUA) (Figura 4).

Na sequência, foi realizado colecistectomia após a dissecação do ducto e artéria cística, com ligadura utilizando fio algodão 2.0 dessas estruturas. Realizada canulação, com cateter siliconizado de 8F, do colédoco para medida da produção de bile. O terço proximal do colédoco também foi ligado e seccionado posteriormente. Uma cistostomia aberta com cateter siliconizado de 18F (Solidor®) para quantificar a diurese.

Figura 5: Monitorização vascular do hilo hepático. A) Setas evidenciam os vasos do hilo hepático. B) Setas mostram superiormente a artéria hepática própria e inferiormente a veia porta. C) Posicionamento dos fluxômetros ultra-sônicos em ambos os vasos. D) Fluxômetro.

3.7 TÉCNICA DE EVISCERAÇÃO DOS ORGÃOS SIMULANDO O RECEPTOR DE TxMv

A cirurgia de evisceração consistiu de três fases em cada um dos grupos:

Grupo 1: EVISCERAÇÃO SEM PRESERVAÇÃO ESPLÊNICA

- Fase 1 : Ressecção do intestino delgado e intestino grosso (Desenho 1)

- **Fase 2 : Ressecção do estômago e baço (Desenho 2)**
- **Fase 3 : Ressecção do complexo pancreatoduodenal (Desenho 4)**

Grupo 2: EVISCERAÇÃO COM PRESERVAÇÃO ESPLÊNICA

- **Fase 1 : Ressecção do intestino delgado e intestino grosso (Desenho 1)**
- **Fase 2 : Ressecção do estômago (Desenho 3)**
- **Fase 3 : Ressecção do complexo pancreatoduodenal (Desenho 5)**

FASE 1

A Fase 1 de ambos os grupos é idêntica e consistiu-se da proteção das alças intestinais utilizando compressa úmida em soro fisiológico a 37° C e posicionadas do lado direito da cavidade. Inicia-se a dissecação, à esquerda da aorta abdominal e acima dos vasos renais, do tronco celíaco (TC) e ramificações assim como, a artéria mesentérica superior (AMS) a qual foi isolada (Figura 6).

Figura 6: Dissecção dos primeiros dois principais troncos arteriais abdominais. Visão lateral esquerda da aorta abdominal com dissecção e isolamento dos seus dois primeiros principais troncos. No lado direito o TC com o ramo da artéria hepática comum (AHC) e artéria esplênica (AE), e no lado esquerdo está a AMS.

Após mobilização medial do duodeno, a terceira porção foi seccionada utilizando grampeador linear cortante 75 mm (Ethicon®) (Figura 6). com liberação do plano avascular até isolamento da veia mesentérica superior (VMS), cuja localização estava 2,0 cm abaixo da confluência com a veia esplênica. Este vaso foi canulado, por um tubo siliconizado de 8F, para posterior coleta de sangue portal, fixado com fio algodão 2.0 e seccionado distalmente. (Figura 7)

Figura 7: Realizada mobilização medial e secção da terceira porção duodenal.

Figura 8: Canulação da veia mesentérica superior com tubo siliconizado.

Em seguida foi realizada com o mesmo grampeador, nova secção na transição sigmóide-reto com dissecção e isolamento da artéria mesentérica inferior (AMI). Nesse momento, a AMS e a AMI foram ligadas utilizando fio algodão 0. Procedeu-se a liberação, cranialmente, de todo o intestino delgado e grosso pelo plano

avascular, sendo identificada a Veia Mesentérica Inferior (VMI) na raiz do mesocólon, que também foi ligada e seccionada.

Desenho 1: Evidenciando o aspecto final da primeira fase de evisceração em ambos os grupos.

FASE 2

Na Fase 2 foram realizados dissecação e isolamento do esôfago abdominal com posterior grampeamento do mesmo em ambos os grupos. Posteriormente, no Grupo 1, para a realização da gastrectomia total foram realizados ligaduras dos pedículos

vasculares arteriais e venosos; aa. e vv. gástrica esquerda, aa. e vv. gástrica direita, aa. e vv. gastroepiplóica esquerda, aa. e vv. gastroepiplóica direita, aa e vv. gastroduodenal e aa. e vv. gástrica curtas, e para a esplenectomia, ligadura da aa. e vv. esplênica. No Grupo 2, realizada apenas a gastrectomia total (Figura 8), preservando o fluxo dos vasos esplênicos.

Desenho 2: Evidenciando aspecto da segunda fase de evisceração no Grupo 1.

Desenho 3: Evidenciando aspecto da segunda fase de evisceração no Grupo 2.

Figura 9: Aspecto final, in loco, segunda fase de evisceração no Grupo 2.

FASE 3

Nos dois grupos, a Fase 3 consiste na mobilização medial do duodeno, o mesmo ocorrendo com o pâncreas a partir da sua cauda. Ambos serão desconectados de seu pedículos vasculares, sendo retirados em bloco.

Figura 10: Realizado término da evisceração do grupo 1, com destaque para AHC, isolada no fio amarelo, VP e via biliar canuladas.

Desenho 4: Evidenciando aspecto final da terceira fase de evisceração no Grupo 1.

Desenho 5: Evidenciando aspecto final da terceira fase de evisceração no Grupo

2.

3.8 PARÂMETROS HEMODINÂMICOS

3.8.1 - Medidas hemodinâmicas e de fluxo regional

3.8.1.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.

3.8.1.b. Pressão de oclusão da artéria pulmonar

As pressões de oclusão da artéria pulmonar (POAP) foram medidas conforme protocolo estabelecido, sendo seus valores expressos em mmHg.

3.8.1.c. Fluxo da artéria hepática, veia porta e veia renal

O fluxo da artéria hepática (FAH), fluxo da veia porta (FVP) e fluxo da veia renal (FVR) foram obtidos de maneira contínua através do posicionamento do fluxômetro ultra-sônico, ao redor destes vasos sendo os valores expresso em ml/min.

3.8.2 Débito cardíaco

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

3.8.3 Resistência Vascular Sistêmica e Pulmonar

A resistência vascular sistêmica e pulmonar (RVS e RVP) foram calculadas pela diferença entre PAM e a PVC, e a PMAP e a POAP, respectivamente, divididos pelo débito cardíaco e representados em dinas.seg/cm⁵/m².

$$RVS = (PAM - PVC) / DC$$

$$RVP = (PMAP - POAP) / DC$$

3.9 - MEDIDAS DE TRANSPORTE DE OXIGÊNIO

O conteúdo de oxigênio arterial (CaO₂), sangue venoso misto (CvO₂), veia hepática (CpO₂) foram obtidos pelas taxas de hemoglobina arterial (Hba), venosa mista (Hbv), veia hepática (Hbh), veia porta (Hbp), das saturações de oxigênio arterial (SaO₂), venosa mista (SvO₂), hepática (ShO₂), veia porta (SpO₂) e da pressão parcial de

oxigênio no sangue arterial, venoso misto, veia hepática, veia porta (PaO_2 , PvO_2 , PhO_2 , PpO_2 , respectivamente), utilizando as fórmulas padrões.

$$CaO_2 = (Hba \times SaO_2 \times 1,34) + (PaO_2 \times 0,0031)$$

$$CpO_2 = (Hbp \times SpO_2 \times 1,34) + (PpO_2 \times 0,0031)$$

$$CvO_2 = (Hbv \times SvO_2 \times 1,34) + (PvO_2 \times 0,0031)$$

$$ChO_2 = (Hbh \times ShO_2 \times 1,34) + (PhO_2 \times 0,0031)$$

3.9.1 Oferta sistêmica e hepática de oxigênio

A oferta sistêmica e hepática de oxigênio respectivamente: DO_{2sist} e DO_{2hepat} , expressas em $ml.min^{-1}$, foram calculadas a partir do débito cardíaco (DC) e do conteúdo de oxigênio arterial e da veia porta (CaO_2 , CpO_2), mediante as fórmulas expressas abaixo.

$$DO_{2sist} = DC \times CaO_2$$

$$DO_{2hepat} = (FAH \times CaO_2) + (FVP \times CpO_2)$$

3.9.2 Consumo sistêmico e hepático de oxigênio

O consumo de oxigênio sistêmico e hepático respectivamente: VO_{2sist} e VO_{2hepat} expressos em $ml.min^{-1}$, foram obtidos a partir das fórmulas expressas abaixo.

$$VO_{2sist} = DC \times (CAO_2 - CVO_2)$$

$$VO_{2hepat} = DO_{2hepat} - [(FVP + FAH) \times CHO_2]$$

3.9.3 Taxa de extração sistêmica e hepática de oxigênio

As taxas de extração sistêmica e hepática de oxigênio (TEO_{2sist} , TEO_{2hepat}), respectivamente, foram expressas em percentagem (%) e foram obtidas a partir de conteúdo de oxigênio no sangue arterial, venoso, hepático e portal (CaO_2 , CvO_2 e ChO_2) mediante fórmulas, expressas abaixo.

$$TEO_{2sist} = (CaO_2 - CvO_2) / CaO_2 \times 100$$

$$TEO_{2hepat} = DO_{2hepat} - (FAH \times ChO_2)$$

3.10 VARIÁVEIS LABORATORIAIS

As amostras laboratoriais foram coletadas nos tempos T0, T60, T120 e T180 conforme protocolo experimental.

Bioquímica	Método
Na	Eletrodo íon seletivo
K	Eletrodo íon seletivo
ALT	cinético UV
AST	cinético UV
Uréia	cinético UV
Creatinina	Jaffé
Fosfatase Alcalina	enzimático colorimétrico
Gama GT	colorimétrico
Bilirrubina total e frações	colorimétrico

Tabela 2: Os métodos utilizados na determinação da bioquímica correspondente.

Nos momentos citados acima, amostras de sangue arterial foram colhidas sendo que a bioquímica (Tabela 2) e o coagulograma (Tabela 3) foram submetidos a centrifuga Labofuge 400 R (Thermo Fisher Scientific - Germany) a 4.000rpm por 20 minutos a 4°C. Após a retirada do sobrenadante, foram realizadas alíquotas de 1 ml que foram submetidas a refrigeração de menos 20°C.

Coagulação	Método
Tempo de protrombina	Quick modificado
Tempo de tromboplastina	Jim modificado
Tempo parcial de ativação de tromboplastina	Proctor & Rapaport modificado
Fibrinogênio	Clauss modificado
Fator V de Leiden	Ensaio baseado no tempo de protrombina

Tabela 3: Os métodos utilizados na determinação dos tempos da coagulação e do fator V de Leiden.

A bioquímica foi analisada no dia seguinte no aparelho Cobas C 111 (Roche Instrument Center - Switzerland) e o coagulograma, em no máximo por quinze dias, no aparelho Start 4 (Stago-Horiba Gennevilliers - France). O hemograma foi analisado no aparelho pocH - 100iv Diff (Roche Kobe Japan) e seu diferencial de leucócitos, por profissional capacitado.

Dados gasométricos (pH, pO₂, pCO₂, BE, HCO₃, 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, veia hepática e veia porta, e avaliados imediatamente após coleta, através do analisador de gases sanguíneos ABL 800 Flex (Radiometer - Denmark).

3.10.1 Histologia / Imunohistoquímica / Peroxidação lipídica

Fragmentos hepáticos de aproximadamente 2 x 2 cm foram obtidos após o preparo cirúrgico inicial (T0), na metade do procedimento (T90) e após o término (T180).

3.10.1.a. Estudo histopatológico

Os fragmentos foram fixados em formalina, desidratados e fixados em blocos de parafina para serem submetidos a microtomia (2 µm) e corados em hematoxilina e eosina. As lâminas foram analisadas por microscopia ótica por um observador para graduação das lesões apresentadas.

3.10.1.b Imunohistoquímica

Os fragmentos hepáticos, incluídos em parafina, foram submetidos a microtomia de 5µm. Foram deparafinizados com banhos consecutivos de xilol por 5 minutos. Após a reidratação em banhos de etanol de concentração decrescente, as lâminas foram imersas em solução de citrato de sódio 0,01M e levadas a ebulição e em seguida mantidas em temperatura elevada por 10 minutos quando então foram resfriadas a temperatura ambiente por trinta minutos. Duas gotas de solução bloqueadora de peroxidase foram aplicadas a cada lâmina, cobrindo toda a amostra de tecido e encubado a 25°C por 10 minutos. Realizadas duas lavagens das lâminas em água destilada e uma lavagem em PBS por 3 minutos. Após a aplicação de 3 gotas de solução bloqueadora as lâminas foram encubadas por 60 minutos a 25°C. Três gotas do anticorpo primário foram aplicadas as lâminas que permaneceram por uma temperatura de 4°C até o dia seguinte. Para controle negativo, uma lâmina com cada amostra de fragmento foi tratada com solução de controle negativo e também mantida a 4°C por uma noite. No dia seguinte, após três lavagens de três minutos em PBS, as lâminas receberam três gotas de anticorpo secundário biotinilado, encubadas a 25°C por 3 minutos e lavadas, por 3 vezes de 5 minutos, em PBS. Simultaneamente, foi preparado o reagente AB, uma gota de cada reagente (A e B) em 2,5ml de água destilada e mantido a 25°C por trinta minutos.

Esse composto foi aplicado a lâmina, cobrindo toda a amostra tecidual e mantido por trinta minutos a 25°C e posteriormente lavado com PBS por três banhos de cinco minutos. Os reagentes de números 1, 2, 3 e 4 foram adicionados, uma gota de cada um,

a 2,5 ml de água destilada e, após terem sido bem misturados, foram aplicados as lâminas. No momento que as lâminas adquiriram coloração marrom-avermelhada, foram lavadas com água destilada. Realizada a contra-coloração com hematoxilina.

3.10.1.c. Avaliação da Peroxidação lipídica

A quantificação da peroxidação lipídica no tecido hepático foi realizada através da determinação da concentração de malondialdeído (MDA) por meio da dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). As amostras foram homogeneizadas em KCl, centrifugadas e no sobrenadante foi adicionada uma solução contendo ácido tiobarbitúrico, duodecilsulfato de sódio, ácido acético glacial e água destilada. A mistura foi aquecida a 90°C por 45 minutos. Após resfriamento, em temperatura ambiente as amostras foram centrifugadas (15.000rpm, 10 minutos). As concentrações dos produtos da peroxidação lipídica foram expressas pela concentração de TBARS. Os resultados foram expressos em nmolMDA/mg proteína.

3.10.2. Apoptose / Função mitocondrial

Fragmentos hepáticos de aproximadamente 2 x 2 cm foram obtidos após o preparo cirúrgico inicial (T0) e após o término do procedimento (T180).

3.10.2.a. Apoptose

A presença de células em apoptose foi investigada pelo método TUNEL (TdT mediated dUTP nick end labeling), em cortes histológicos de 3 µm de espessura. O Kit comercial QIA33 FragEL™ DNA Fragmentation Detection Kit, Colorimetric - TdT Enzyme (Calbiochem) foi utilizado que tem como finalidade a identificação de células em processo de apoptose via marcação de fragmentos terminais de DNA (porção 3' - OH), caracteristicamente relacionado com a fragmentação do DNA nuclear. O método consiste em desparafinação dos cortes em solução xilol com 2 banhos de 5 minutos, seguido de lavagem em álcool absoluto com 2 banhos de 5 minutos, seguido de lavagem em álcool a 95% e 70% com 1 banho por 3 minutos, lavagem em PBS por 5 minutos e incubação em solução de proteínas k (20 µg/ml) por 15 minutos à temperatura ambiente. Lavagem em água destilada com 4 banhos de 2 minutos, incubação em peróxido de hidrogênio a 2%, diluído em PBS por 5 minutos, com lavagem em PBS com 2 banhos de 5 minutos, incubação em solução tampão de equilíbrio seguido da incubação em enzima TdT a 37°, em câmara úmida por 1 hora.

Incubação em solução tampão Stop solution a temperatura ambiente por 10 min, com incubação com Anti-Digoxigenina-Peroxidase em câmara úmida à temperatura ambiente por 30 minutos, lavagem em PBS com 4 banhos de 5 minutos, incubação com DAB à temperatura ambiente por 5 min, contracoloração com hematoxilina de Harris por 5 minutos, seguido de lavagem em água destilada com 3 banhos por 30 segundos e lavagem em butanol 100% com 3 banhos de 30 segundos para a montagem da lâmina.

As medidas quantitativas foram expressas em porcentagem de células apoptóticas contadas em objetiva de maior aumento (400x).⁵⁶

3.10.2.b. Avaliação das funções oxidativas e fosforilativas mitocondriais do tecido hepático

Para o estudo da função mitocondrial, o fígado retirado foi imediatamente imerso em solução de homogeneização para extração das mitocôndrias.⁵² O consumo de oxigênio pela mitocôndria foi determinado através do estudo polarográfico da mitocôndria, utilizando o oxígrafo 5/6 H (Gilson Medical Electronics, Inc) com eletrodo de oxigênio em temperatura controlada a 28° C (Clarck, Yellow Springs Instruments Co, Yellow Springs, Ohio).⁵⁷

Uma porção da suspensão de mitocôndrias foi acrescentada ao meio da reação no compartimento de vidro do eletrodo de oxigênio. A seguir, o substrato energético succinato de potássio foi adicionado, e o estado basal (Estado 4, S4) da respiração mitocondrial foi registrado.

A fosforilação do ADP em ATP, observada no estado ativado da respiração mitocondrial (Estado 3, S3), foi induzida pelo acréscimo de adenosina difosfato (ADP, Sigma Chemical Company, St Louis, Missouri). Quando do esgotamento de todo o ADP do meio, a respiração independente de ADP (S4) foi registrada novamente pelo oxígrafo. A razão do controle respiratório (RCR) e a razão ADP/consumo de oxigênio (ADP/O) foram consideradas como índices das funções oxidativas e fosforilativas mitocondriais. A RCR foi calculada como razão entre a velocidade do

consumo de oxigênio na presença de ADP (S3) e a velocidade do consumo de oxigênio na ausência de ADP (S4).⁵⁸ Os estados S3 e S4 foram expressos em ng de átomos de oxigênio/mg de proteína/minuto.⁵⁹

3.11 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Protocolo Experimental

3.12 TÉRMINO

Após procedimento experimental os animais foram submetidos a eutanásia, realizada evisceração hepática com pesagem do fígado, e posteriormente, encaminhados para o câmara fria do biotério, sendo recolhidos pelo serviço da Prefeitura do Município de São Paulo.

3.13 MÉTODO ESTATÍSTICO

Os dados contínuos e semi-contínuos foram inicialmente comparados com a curva de Gauss e determinados a normalidade para cada variável e classificados como paramétricos.

Como os dados possuíam comportamento paramétrico os dados das variáveis média e desvio padrão da amostra e foram comparados através do Teste de Análise de Variância de Duas Vias (Two-way Anova) com pós-teste de Dunnett, vias avaliadas: Grupo (Grupo 1 e 2) e Tempo (Basal, T60, T120 e T180).

Os dados categóricos foram representados por frequência absoluta (n) e relativa (%) e comparados pelo teste de Qui-quadrado de Pearson.

Foi considerado para todo estudo risco $\alpha \leq 0,05$ de cometer erro tipo I ou de 1ª espécie e risco $\beta \leq 0,20$ de cometer erro tipo II ou de 2ª espécie.

Foi utilizado o programa de Estatística SPSS 19.0 da Empresa IBM®.

4 RESULTADOS

As variáveis hemodinâmicas apresentam alterações significativas como a POAP no T60 (Média T60 Grupo 1: 3,50 x Média Basal Grupo 1: 4,50) e T120 (Média T120 Grupo 1: 3,25 x Média Basal Grupo 1: 4,50) e efeito sustentado a partir do T60 das variáveis FAH e DC.

Tabela 4 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis hemodinâmicas.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
PAM (mmHg)	Um	67,71	7,91	67,00	7,25	62,00	7,48	59,50	8,45	0,313	0,013	0,539	0,804
	Dois	63,33	6,83	55,00	8,05	59,83	4,26	58,50	5,28				
FVR (ml/min)	Um	120,75	18,98	100,00	32,18	111,75	35,44	104,63	40,87	0,020	0,010	0,116	0,248
	Dois	145,00	13,07	142,50	12,57	137,50	12,14	83,67	10,48 (a)				
FAH (ml/min)	Um	287,25	60,20	499,00	131,29	(a) 504,25	171,05	(a) 561,13	231,18	0,231	0,017	0,049	0,031
	Dois	254,50	21,57	342,33	48,74	(a) 345,17	51,07	(a) 325,00	42,68 (a)				
PAPm (mmHg)	Um	17,00	1,69	16,38	1,19	18,00	1,85	17,00	1,20	0,867	0,705	0,264	0,373
	Dois	16,83	1,94	16,67	1,63	16,83	1,83	16,33	1,51				
POAP (mmHg)	Um	4,50	0,53	3,50	0,76	(a) 3,25	0,46	(a) 3,75	0,71	1,000	0,039	0,031	0,408
	Dois	4,50	0,55	4,33	0,52	3,83	0,41	(a) 4,00	0,00				
FVP (ml/min)	Um	1069,88	181,91	-	-	-	-	-	-	0,066	-	-	-
	Dois	911,00	68,15	328,67	76,05	(a) 324,83	71,59	(a) 136,83	12,46 (a)				
DC (L/min)	Um	3,40	0,54	2,54	0,56	(a) 2,60	0,32	(a) 2,61	0,34	0,117	0,172	0,042	0,042
	Dois	2,98	0,28	2,13	0,43	(a) 2,20	0,31	(a) 2,20	0,30 (a)				
Temp (°C)	Um	35,83	0,89	35,63	0,93	35,57	0,93	35,47	0,75	0,990	0,863	0,806	0,653
	Dois	35,83	0,33	35,70	0,35	35,47	0,44	35,32	0,35				
FC (bpm)	Um	125,63	22,67	126,13	27,69	125,75	25,29	118,13	22,91	0,884	0,367	0,379	0,298
	Dois	127,33	19,24	113,33	21,38	115,17	14,48	107,17	10,01				

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a) $p < 0,05$ vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Resultados

O peso dos animais era semelhante, não apresentando alteração estatística, (Média Grupo 1: 29,38 x Média Grupo 2: 29,00) da mesma forma o peso do explante (Média Grupo 1: 913,50 x Média Grupo 2: 885,33. Nota-se que ao final do estudo a diurese foi estatisticamente menor no Grupo 2 (Média Grupo 1: 5,36 x Média Grupo 2: 2,68), entretanto, o balanço hídrico não possui diferença significativa, (Média Grupo 1: 66,88 x Média Grupo 2: 133,33) embora os animais tenham se apresentado de forma heterogênea.

Tabela 5 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto aos fatores intra operatórios.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Peso (Kg)	Um	29,38	3,11	-	-	-	-	-	-	0,781	-	-	-
	Dois	29,00	0,89	-	-	-	-	-	-		-	-	-
Bile (ml)	Um	-	-	-	-	-	-	68,13	7,00	-	-	-	0,320
	Dois	-	-	-	-	-	-	72,17	7,52				
Peso Explante (g)	Um	-	-	-	-	-	-	913,50	208,37	-	-	-	0,796
	Dois	-	-	-	-	-	-	885,33	180,06				
Infusão líquidos (ml/kg/h)	Um	1,54	0,29	2,36	0,80	3,38	1,38 (a)	2,90	0,48	0,776	0,398	0,948	0,265
	Dois	1,65	0,70	2,78	0,43	3,31	1,19 (a)	2,38	0,69				
Diurese (ml/kg/h)	Um	-	-	-	-	-	-	2,68	1,47	-	-	-	0,001
	Dois	-	-	-	-	-	-	5,36	0,47				
BH (ml)	Um	-	-	-	-	-	-	66,88	145,97	-	-	-	0,358
	Dois	-	-	-	-	-	-	133,33	99,58				

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a) p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Embora tenha havido havido uma diferença significativa do PCO₂ no T180 (Média T180 Grupo 1: 25,38 x Média Basal Grupo 1: 35,04), do ponto de vista

Resultados

de Saturação não houve diferença. O Lactato foi o evento mais precoce que a variação de PCO₂, apresentado diferença significativa no T60 (Média Grupo 1: 3,31 x Média Grupo 2: 2,03) acompanhando o BE (Média Grupo 1: -10,98 x Média Grupo 2: -4,27).

Tabela 6 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria arterial.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
pCO (mmHg)	Um	35,04	7,39	30,64	6,47	29,04	7,22	25,38	7,05	(a)			
	Dois	38,85	3,60	36,57	2,27	35,38	1,84	38,70	3,99	0,270	0,054	0,059	0,001
SatO (%)	Um	99,99	0,04	99,98	0,07	99,95	0,11	99,93	0,14				
	Dois	99,98	0,04	99,80	0,44	100,00	0,00	99,97	0,05	0,841	0,287	0,279	0,501
pO (mmHg)	Um	328,25	58,86	328,50	46,96	327,13	51,91	319,25	55,86				
	Dois	296,67	35,28	314,67	46,50	325,50	39,57	296,00	37,11	0,268	0,594	0,950	0,396
Lactato (mmol/l)	Um	2,59	1,15	3,31	1,02	3,19	1,37	3,35	1,85				
	Dois	2,23	0,48	2,03	0,37	1,80	0,39	1,50	0,36	0,495	0,013	0,035	0,034
pH	Um	7,34	0,10	7,28	0,10	7,29	0,08	7,31	0,12				
	Dois	7,33	0,06	7,36	0,05	7,37	0,07	7,31	0,08	0,726	0,132	0,082	0,932
BE (mEq/l)	Um	-5,79	6,26	-10,98	5,31	-11,53	4,04	-12,81	3,31	(a)			
	Dois	-1,72	3,15	-4,27	2,63	-3,63	4,01	-7,02	8,73	0,173	0,015	0,003	0,108
Hb (mg/dl)	Um	9,76	2,50	9,90	2,68	8,76	2,20	8,14	2,14				
	Dois	9,82	1,07	9,80	0,83	8,90	1,08	8,37	1,05	0,961	0,932	0,891	0,815
Ht (%)	Um	30,15	7,56	30,65	8,01	27,24	6,65	25,34	6,50				
	Dois	30,17	2,64	31,17	3,84	27,77	4,89	26,23	4,22	0,996	0,887	0,873	0,775

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a) $p < 0,05$ vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Resultados

Os parâmetros da gasometria venosa não repercutem os encontrados na gasometria arterial, principalmente em relação as variáveis: PCO₂, lactato e BE. O lactato e o pH apresentam efeitos transitórios. O primeiro, de forma mais precoce: T60 (Média Grupo 1: 4,19 x Média Grupo 2: 2,58), e o segundo no T120 (Média Grupo 1: 7,14 x Média Grupo 2: 6,97)

Tabela 7 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria venosa.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
pCO (mmHg)	Um	48,06	7,20	49,76	13,82	49,81	18,20	47,88	12,95				
	Dois	48,28	6,05	45,10	6,66	48,15	5,58	46,60	4,42	0,953	0,463	0,834	0,822
SatO (%)	Um	63,64	20,00	55,21	19,62	51,49	19,67	51,11	15,83				
	Dois	67,83	16,96	64,75	16,70	58,53	15,65	62,95	9,82	0,687	0,358	0,485	0,134
pO (mmHg)	Um	52,89	11,14	48,28	10,41	46,19	9,84	47,18	11,84				
	Dois	52,43	5,67	48,38	5,11	45,42	4,02	44,82	5,38 ^(a)	0,929	0,982	0,860	0,660
Lactato (mmol/l)	Um	2,94	1,31	4,19	1,54	4,16	2,13	4,23	2,52				
	Dois	2,78	0,90	2,58	0,85	3,02	1,04	3,82	2,04	0,809	0,041	0,252	0,751
pH	Um	7,25	0,11	7,15	0,14	7,14	0,12	7,14	0,11				
	Dois	7,17	0,08	7,09	0,13	6,97	0,09 ^(a)	7,01	0,18	0,143	0,480	0,016	0,132
BE (mEq/l)	Um	-5,20	6,29	-10,61	5,52	-11,18	3,94	-11,58	3,80 ^(a)				
	Dois	-5,18	3,23	-8,00	5,33	-8,38	4,74	-9,58	3,50	0,995	0,392	0,251	0,336

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a)p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Comparativamente aos grupos não houve diferença significativa no momento basal. O BE no T180 foi significativo quando comparado ao Basal (Média T180 Grupo 2: -9,95 x Média Basal Grupo 2: -2,32). O PO₂ apresentou uma queda de 39% (Média T180 Grupo 2: 41,60 x Média Basal Grupo 2: 67,08), enquanto o BE apresentou uma queda superior a 300% (Média T180 Grupo 2: -9,95 x Média Basal Grupo 2: -2,32).

Resultados

Tabela 8 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria portal.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
pCO (mmHg)	Um	42,18	8,42	-	-	-	-	-	-	0,756	-	-	-
	Dois	43,45	5,73	44,00	4,92	42,48	2,95	45,68	3,76				
SatO (%)	Um	87,45	10,64	-	-	-	-	-	-	0,924	-	-	-
	Dois	87,93	6,49	86,83	4,53	83,05	11,15	81,25	3,78				
pO (mmHg)	Um	76,76	17,81	-	-	-	-	-	-	0,243	-	-	-
	Dois	67,08	8,17	56,40	10,08	54,93	9,69	41,60	10,97 ^(a)				
Lactato (mmol/l)	Um	2,66	1,14	-	-	-	-	-	-	0,865	-	-	-
	Dois	2,57	0,83	2,20	0,85	2,93	1,40	3,55	1,32				
pH	Um	7,29	0,08	-	-	-	-	-	-	0,267	-	-	-
	Dois	7,22	0,14	7,21	0,05	7,13	0,13	7,11	0,20				
BE (mEq/l)	Um	-5,55	5,99	-	-	-	-	-	-	0,233	-	-	-
	Dois	-2,32	2,07	-3,08	1,83	-5,35	3,32	-9,95	4,72 ^(a)				

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a)p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

As variáveis pH e BE apresentam alterações significativas no T120 e T60 respectivamente, porém, de forma transitória. Sendo a variável BE de forma mais precoce T60 (Média Grupo 1: -9,66 x Média Grupo 2: -4,63) e o pH T120 (Média Grupo 1: 7,22 x Média Grupo 2: 7,11)

Resultados

Tabela 9 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de gasometria hepática.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
pCO (mmHg)	Um	42,50	10,54	40,10	7,72	39,80	9,74	33,15	6,85				
	Dois	41,47	4,93	38,37	5,53	34,43	5,65	34,15	2,64	0,829	0,650	0,253	0,742
SatO (%)	Um	70,16	8,10	57,15	23,73	59,31	19,82	61,58	15,76				
	Dois	71,07	3,57	58,78	7,84	56,90	7,72	47,33	4,23	0,804	0,875	0,784	0,054
pO (mmHg)	Um	58,26	15,60	49,51	17,14	49,60	12,37	51,19	14,47				
	Dois	57,82	9,69	51,52	5,17	48,47	6,34	45,30	9,59	0,952	0,788	0,842	0,406
Lactato (mmol/l)	Um	2,44	1,17	3,13	1,31	3,08	1,40	3,11	1,89				
	Dois	2,42	0,77	3,05	1,78	3,07	1,60	3,63	2,48	0,971	0,929	0,992	0,663
pH	Um	7,29	0,09	7,23	0,08	7,22	0,09	7,23	0,10				
	Dois	7,19	0,10	7,19	0,09	7,11	0,06	7,16	0,08	0,066	0,391	0,024	0,140
BE (mEq/l)	Um	-5,60	5,47	-9,66	4,72	-10,31	3,88	-12,36	4,05				
	Dois	-1,38	3,04	-4,63	1,59	-8,87	4,42	-11,78	6,17	0,117	0,029	0,528	0,835

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a) p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Em relação a Tabela 10, das variáveis de coagulação: o TP e FV% apresentaram no T60 e T120 valores significativos, porém não se sustentaram até o término do estudo. A variável TP% (Média T60 Grupo1: 35,78 x Média T60 Grupo 2: 63,48) e (Média T120 Grupo1: 32,05 x Média T120 Grupo2: 56,27) e FV% (Média T60 Grupo 1: 160,20 x Média T60 Grupo 2: 200) e (Média T120 Grupo 1: 138,64 x Média T120 Grupo 2: 200). Durante os quatro tempos estudados, não houve alteração significativa dos valores plaquetários.

Resultados

Tabela 10 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de coagulação.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
TP (seg)	Um	16,84	6,96	35,68	34,56	41,15	34,68	26,24	23,57	0,305	0,193	0,123	0,261
	Dois	13,75	0,66	16,00	2,14	17,37	2,10 (a)	14,72	2,60				
TP (%)	Um	76,55	32,11	35,78	20,01 (a)	32,05	23,78 (a)	58,63	33,22	0,855	0,012	0,043	0,335
	Dois	79,07	7,02	63,48	12,94	56,27	12,15 (a)	73,30	14,54				
INR	Um	1,43	0,76	3,37	3,55	4,11	3,67	2,72	3,37	0,464	0,215	0,125	0,336
	Dois	1,19	0,09	1,45	0,27	1,61	0,24 (a)	1,32	0,32				
TTPA (seg)	Um	26,10	5,35	52,70	54,09	52,79	54,16	40,68	40,97	0,014	0,160	0,151	0,222
	Dois	19,10	3,03	19,22	2,62	18,52	3,11	18,87	2,54				
TTPA (%)	Um	0,80	0,16	3,54	5,22	3,54	5,22	2,21	3,96	0,014	0,196	0,192	0,341
	Dois	0,58	0,09	0,59	0,08	0,57	0,10	0,59	0,06				
TT (seg)	Um	22,79	4,16	33,54	14,12	30,56	7,21	28,38	6,40	0,671	0,944	0,223	0,811
	Dois	23,80	4,51	33,07	8,67 (a)	26,25	4,43	29,13	4,64				
TT (%)	Um	0,98	0,20	1,91	2,13	1,25	0,46	1,18	0,40	0,384	0,645	0,777	0,446
	Dois	1,08	0,21	1,49	0,38 (a)	1,20	0,20	1,33	0,21				
Fib (seg)	Um	54,59	14,84	68,10	5,37 (a)	68,76	3,50 (a)	62,63	14,31	0,037	0,250	0,226	0,133
	Dois	69,10	2,20	126,65	138,7	161,10	207,5	83,58	33,27				
Fib (mg/dl)	Um	98,38	45,42	56,46	18,28	55,36	15,17 (a)	73,03	45,08	0,040	0,192	0,164	0,191
	Dois	54,35	10,66	43,58	15,72	42,60	16,98	46,98	7,39				
FV (seg)	Um	14,78	1,26	18,14	1,83 (a)	19,09	3,08 (a)	15,91	1,23	0,417	0,003	0,021	0,058
	Dois	14,28	0,77	15,10	0,97	15,62	0,90 (a)	14,68	0,83				
FV (%)	Um	197,76	6,33	160,20	37,27	138,64	46,90 (a)	194,21	16,37	0,408	0,024	0,008	0,408
	Dois	200,00	0,00	200,00	0,00	200,00	0,00	200,00	0,00				
Plaquetas (mil/mm)	Um	376,63	89,32	250,75	50,77 (a)	243,00	64,95 (a)	298,25	61,77	0,641	0,054	0,123	0,409
	Dois	354,67	78,39	329,50	87,18	307,00	79,62	342,00	127,1				
VPM (fL)	Um	10,20	0,53	10,29	0,61	10,28	0,59	10,25	0,56	0,505	0,517	0,728	0,610
	Dois	9,98	0,53	10,03	0,70	10,15	0,53	10,08	0,50				

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a)p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Resultados

Em relação a bioquímica não existiu alteração significativa na análise transversal. As variáveis: Sódio, Potássio, Glicose, AST, AST Uréia, Creatinina, BT e FA também não apresentarem alteração na análise longitudinal

Tabela 11 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de bioquímica.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Sódio (mEq/l)	Um	149,25	13,25	147,38	10,28	144,13	6,24	142,38	3,50				
	Dois	140,17	2,14	158,50	29,47	142,33	4,27	151,00	21,90	0,126	0,337	0,558	0,289
Potássio (mEq/L)	Um	4,58	0,28	5,41	1,02	5,29	1,02	5,31	1,14				
	Dois	4,45	0,48	5,65	1,70	5,22	0,80	5,17	1,27	0,554	0,749	0,891	0,825
Glicose (mg/dl)	Um	105,13	12,23	91,75	12,23	90,63	13,64	101,50	15,16				
	Dois	93,67	13,38	94,67	12,55	99,50	12,63	93,17	15,66	0,121	0,670	0,238	0,335
ALT (U/l)	Um	28,00	13,75	22,88	11,09	24,88	12,92	28,75	15,07				
	Dois	44,50	13,46	37,17	14,89	36,33	13,29	42,00	15,94	0,045	0,061	0,131	0,138
AST (U/l)	Um	61,00	55,90	123,75	105,20	181,75	174,41	99,25	81,01				
	Dois	57,00	19,42	93,67	87,61	109,50	90,11	75,00	52,56	0,871	0,581	0,376	0,537
Uréia (mg/dL)	Um	17,63	3,50	16,00	3,16	16,13	3,36	18,25	4,13				
	Dois	17,50	6,01	16,10	4,91	17,65	7,22	17,42	6,67	0,962	0,964	0,605	0,777
Crea (mg/dL)	Um	0,93	0,23	1,00	0,33	1,01	0,30	1,11	0,29				
	Dois	1,17	0,28	1,18	0,33	1,25	0,39	1,22	0,30	0,098	0,324	0,226	0,520
BT (mg/dL)	Um	0,25	0,31	0,16	0,16	0,18	0,17	0,25	0,18				
	Dois	0,30	0,17	0,20	0,09	0,22	0,15	0,32	0,18	0,729	0,626	0,655	0,506
BD (mg/dL)	Um	0,10	0,09	0,12	0,16	0,13	0,16	0,12	0,11				
	Dois	0,13	0,05	0,12	0,07	0,17	0,12	0,13	0,05	0,456	0,964	0,643	0,713
BI (mg/dL)	Um	0,15	0,31	0,05	0,07	0,05	0,07	0,14	0,08				
	Dois	0,17	0,14	0,08	0,07	0,05	0,05	0,18	0,16	0,897	0,431	0,946	0,465
GGT (U/L)	Um	19,75	10,95	11,23	4,32 (a)	10,36	3,96 (a)	14,93	5,56				
	Dois	23,58	7,98	16,23	8,95	12,73	7,63	19,58	7,59	0,484	0,188	0,462	0,208
FA (U/L)	Um	107,05	38,45	87,99	31,08	90,19	28,38	111,59	37,86				
	Dois	162,00	73,44	134,88	55,97	128,90	58,59	151,32	60,65	0,093	0,068	0,126	0,157

Resultados

As variáveis Hb, HT, VCM não apresentaram alteração significativa na análise transversal, apenas CHCM e RDW-CV com efeito transitório nos tempos T60 a T120 e T60, respectivamente. A variável CHCM no T60 (Média T60 Grupo 1: 31,34 x Média T60 Grupo 2: 30,07), no T120 (Média T120 Grupo 1: 31,39 x Média T120 Grupo 2: 29,92) e variável RDW-CV no T60 (Média T60 Grupo 1: 16,03 x Média T60 Grupo 2: 18,92).

Tabela 12 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis da série vermelha.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Eritrócitos (milhões/mm)	Um	5,51	1,29	4,61	0,76	4,56	0,99	5,45	1,37	0,796	0,168	0,366	0,712
	Dois	5,67	0,69	5,43	1,34	5,07	1,05	5,73	1,42				
Hb (g/dL)	Um	9,69	2,45	8,10	1,68	8,04	2,09	9,63	2,65	0,625	0,573	0,965	0,744
	Dois	9,12	1,50	8,72	2,32	8,08	1,58	9,17	2,38				
Ht (%)	Um	30,60	7,37	25,78	4,90	25,50	5,97	30,39	8,01	0,897	0,350	0,631	0,980
	Dois	30,15	4,49	28,92	7,24	26,98	4,94	30,50	7,89				
VCM (fL)	Um	55,49	2,11	55,74	2,61	55,83	2,59	55,60	2,31	0,071	0,084	0,117	0,072
	Dois	53,07	2,46	53,15	2,45	53,50	2,50	53,03	2,53				
HCM (pg)	Um	17,54	1,35	17,50	1,33	37,21	55,69	17,59	1,23	0,038	0,033	0,373	0,019
	Dois	16,03	0,94	15,98	0,89	15,97	0,84	15,95	0,94				
CHCM (g/dL)	Um	31,59	1,52	31,34	1,12	31,39	0,93	33,19	4,34	0,065	0,031	0,006	0,107
	Dois	30,20	0,79	30,07	0,69	29,92	0,60	30,05	0,63				
RDW-CV (%)	Um	16,81	1,42	16,03	1,17	20,84	8,78	16,36	1,30	0,135	0,030	0,564	0,055
	Dois	18,87	3,27	18,92	3,07	18,58	3,25	18,93	3,11				
RDW-SV (fL)	Um	34,26	1,38	34,25	1,96	29,84	8,12	34,45	1,76	0,115	0,088	0,085	0,196
	Dois	37,10	4,50	37,42	4,30	36,73	4,37	37,22	5,40				

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a) $p < 0,05$ vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Em relação a Tabela 13, a análise das variáveis mostrou um efeito transitório com relação aos Segmentados (%) no T180 (Média T180 Grupo 1: 54,25 x Média T180 Grupo 2: 40,50) e uma alteração significativa sustentada dos Linfócitos (%) a partir de T60 (Média T60 Grupo 1: 33,88 x Média T60 Grupo 2: 47,67), no T120 (Média T120 Grupo 1: 33,13 x Média T120 Grupo 2: 44,67) e no T180 (Média T180 Grupo 1: 35,13 x Média T180 Grupo 2: 50,83).

Resultados

Tabela 13 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis da série branca.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Leucócitos (mil/mm)	Um	12,18	4,68	13,79	7,23	13,89	8,43	13,84	7,09	0,456	0,989	0,787	0,976
	Dois	13,85	2,85	13,83	4,13	12,88	3,07	13,73	4,62				
Metamielócito (%)	Um	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,58	0,50	1,00	-	-	0,170	0,242
	Dois	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
Metamielócito (mil/mm)	Um	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,08	0,07	0,15	-	-	0,242	0,242
	Dois	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
Bastonetes (%)	Um	3,50	2,51	10,13	5,22 (a)	12,88	5,84 (a)	6,63	2,62	0,308	0,107	0,092	0,097
	Dois	2,33	1,03	6,17	2,04 (a)	8,17	2,56 (a)	4,50	1,38				
Bastonetes (mil/mm)	Um	0,44	0,44	1,59	1,62	1,97	2,01	0,99	0,89	0,562	0,327	0,298	0,355
	Dois	0,33	0,17	0,88	0,49 (a)	1,06	0,42 (a)	0,62	0,31				
Segmentados (%)	Um	43,38	9,44	52,38	8,25	49,50	7,80	54,25	5,75 (a)	0,549	0,057	0,227	0,011
	Dois	39,83	12,09	42,33	9,56	43,00	11,37	40,50	11,31				
Segmentados (mil/mm)	Um	5,34	2,49	7,32	4,41	7,04	4,91	7,65	4,50	0,816	0,530	0,565	0,427
	Dois	5,64	2,16	6,00	2,68	5,72	2,61	5,91	2,93				
Eosinófilos (%)	Um	0,50	0,76	0,38	0,74	0,88	0,99	0,63	0,92	1,000	0,267	0,470	0,773
	Dois	0,50	0,55	1,00	1,26	0,50	0,84	0,50	0,55				
Eosinófilos (mil/mm)	Um	0,06	0,09	0,05	0,10	0,14	0,14	0,07	0,11	0,773	0,232	0,302	0,878
	Dois	0,08	0,08	0,14	0,18	0,06	0,11	0,08	0,09				
Basófilos (%)	Um	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,35	-	-	-	0,408
	Dois	0,00	0,00	0,33	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00				
Basófilos (mil/mm)	Um	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04	-	-	-	0,408
	Dois	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
Linfócitos (%)	Um	48,38	10,14	33,88	7,16 (a)	33,13	6,79 (a)	35,13	5,91 (a)	0,422	0,013	0,021	0,005
	Dois	53,33	12,19	47,67	10,58	44,67	9,56	50,83	11,18				
Linfócitos (mil/mm)	Um	5,81	2,19	4,39	1,60	4,23	1,78	4,67	1,95	0,230	0,042	0,129	0,079
	Dois	7,28	2,09	6,33	1,54	5,59	1,11	6,66	1,88				
Monócitos (%)	Um	4,25	0,71	3,25	0,71	3,63	1,06	3,00	0,76 (a)	0,422	0,433	0,938	0,187
	Dois	3,83	1,17	3,67	1,21	3,67	0,82	3,67	1,03				
Monócitos (mil/mm)	Um	0,52	0,24	0,44	0,24	0,52	0,38	0,41	0,24	0,862	0,733	0,676	0,599
	Dois	0,50	0,05	0,48	0,17	0,45	0,05	0,47	0,13				

Resultados

As variáveis S4 e Mitocôndria apresentam alteração significativa no final do estudo. A variável S4 no T180 (Média T180 Grupo 1: 40,87 x Média T180 Grupo 2: 25,53).

Tabela 14 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis de citologia e histologia.

		Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
Variável	Grupo	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Apoptose	Um	106,88	72,4	-	-	-	-	132	40,46	0,128	0,427	-	0,935
	Dois	55	31,07	-	-	-	-	129,83	57,21				
S3 (ng de átomos de oxigênio/mg de proteína/ minuto.)	Um	98,06	7,62	-	-	-	-	125,56	59,41	0,049	-	-	0,024
	Dois	49,59	13,46	-	-	-	-	53,52	16,65				
S4 (ng de átomos de oxigênio/mg de proteína/ minuto.)	Um	34,92	3,92	-	-	-	-	40,87	15,46	0,052	-	-	0,008
	Dois	21,98	4,02	-	-	-	-	25,53	3,07				
Mitocôndria RCR	Um	2,81	0,3	-	-	-	-	2,99	0,32	0,028	-	-	0,032
	Dois	2,23	0,27	-	-	-	-	2,35	0,33				
MDA (nmolMDA/mg)	Um	1,5	0,3	2,4	0,8	3,4	1,4 (a)	2,9	0,5	0,147	0,152	0,56	0,095
	Dois	1,7	0,4	2,8	0,4 (a)	3,3	1,2 (a)	1,9	1,1				

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a) $p < 0,05$ vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos na análise transversal. Na análise longitudinal, a Oferta DO_2 apresentou diferença significativa no Grupo 1 a partir do T120, e o Grupo 2, a partir do T60. (Média T60 Grupo 2: 305,3 x 428,45 x Média Basal Grupo 2). Houve queda sustentada do Consumo VO_2 , em ambos os Grupos, a partir do T60. Observou-se aumento das variáveis RVS e RVP em ambos os grupos.

Resultados

Tabela 15 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal,

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Oferta DO (ml/min)	Um	481,36	141,3	402,1	145,6	336,7	82,55 (a)	326,3	67,79 (a)				
	Dois	428,45	77,63	305,3	71,56 (a)	288,9	55,86 (a)	273,8	56,22 (a)	0,433	0,168	0,256	0,161
Consumo VO (ml/min)	Um	17,94	9,34	136	63,42 (a)	142	85,41 (a)	128	72,73 (a)				
	Dois	13,89	7,28	100,8	52,40 (a)	104	46,18 (a)	83,63	21,76 (a)	0,407	0,301	0,351	0,177
Extração TEO (%)	Um	40,18	18,21	48,05	18,14	51,87	17,41	52,12	14,64				
	Dois	35,37	15,78	38,39	15,95	44,81	14,83	40,61	9,39	0,615	0,320	0,440	0,119
Conteúdo CaO	Um	14,29	3,35	14,48	3,56	12,93	2,95	12,05	2,96				
	Dois	14,27	1,45	14,28	1,23	13,11	1,54	12,29	1,41	0,988	0,898	0,891	0,855
RVS (dinas.seg/cm ⁵)	Um	1672,71	364	2890	1331	2632	1465	2300	1342				
	Dois	1682,00	265,6	2245	364 (a)	2522	299 (a)	2553	236 (a)	0,960	0,277	0,861	0,659
RVP (dinas.seg/cm ⁵)	Um	373,86	176,8	615	292	705	437	529	189				
	Dois	371,00	78,73	557	107 (a)	595	78,24 (a)	585	57,66 (a)	0,972	0,654	0,558	0,504

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a)p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Resultados

Embora não tenha havido alteração significativa entre os grupos na análise transversal, observa-se uma queda sustentada e significativa da Oferta-DO₂ a partir do T60 (Média T60 Grupo 1: 77,57 x Média Basal Grupo 1:167,84) e (Média T60 Grupo 2: 88,72 x Média Basal Grupo 2: 145,68), assim como no Grupo 2 da variável Conteúdo-ChO₂. A partir do T120, ambos os Grupos da variável Extração e o Grupo 1 da variável Consumo apresentam uma queda significativa.

Tabela 16 - Comparação ao longo do tempo no grupo um e grupo dois nos momentos Basal, T60, T120 e T180 minutos quanto as variáveis hemodinâmicas hepáticas.

Variável	Grupo	Basal		T60		T120		T180		Grupo 1 vs 2 (Transversal)			
		Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Média	DPA	Basal	T60	T120	T180
Oferta DO (ml/min)	Um	167,84	40,63	77,57	26,00	(a) 72,06	32,98	(a) 75,29	39,13	(a)			
	Dois	145,68	25,00	88,72	12,66	(a) 82,15	20,97	(a) 72,83	13,83	(a)	0,272	0,360	0,533
Consumo VO (ml/min)	Um	38,28	14,76	35,96	10,11	30,47	7,54	(a) 28,36	5,74	(a)			
	Dois	32,28	7,21	34,59	12,19	33,22	13,41	30,67	4,13		0,380	0,897	0,643
Extração TO (%)	Um	17,75	4,74	16,40	16,92	12,64	8,73	(a) 10,34	5,32	(a)			
	Dois	15,17	5,55	10,69	3,69	10,37	3,91	(a) 14,04	6,34	(a)	0,383	0,437	0,569
Conteúdo ChO	Um	9,49	2,53	7,46	3,30	7,14	2,99	6,91	2,16				
	Dois	9,71	1,48	7,98	1,21	(a) 6,98	0,78	(a) 5,55	0,96	(a)	0,856	0,720	0,899

Dados expressos em média e desvio padrão da amostra, Teste de Análise de Variância de Duas Vias com pós-teste de Dunnet, vias avaliadas: Grupo e Tempo, (a)p<0,05 vs Basal - comparação ao longo do tempo.

Resultados

Existe significância entre os Grupos no momento Basal entre os leucócitos, no T60 entre Eritroblastos e Leucócitos, T120 entre a Policromasia e Leucócitos.

Tabela 17 - Distribuição dos achados hematológicos

		Grupo 1		Grupo 2		Qui-quadrado
		n	%	n	%	Significância
Basal	Policromasia (+)	2	25,0%	0	0,0%	0,186
	Eritroblastos (3)	4	50,0%	1	16,7%	0,198
	Leucócitos (100)	4	50,0%	0	0,0%	0,040
	Macroplaquetas	2	25,0%	2	33,3%	0,733
T60	Policromasia (+)	3	37,5%	0	0,0%	0,091
	Eritroblastos (3)	5	62,5%	0	0,0%	0,016
	Leucócitos (100)	5	62,5%	0	0,0%	0,016
	Macroplaquetas	1	12,5%	0	0,0%	0,369
T120	Policromasia (+)	3	37,5%	0	0,0%	0,091
	Eritroblastos (3)	5	62,5%	0	0,0%	0,016
	Leucócitos (100)	4	57,1%	1	16,7%	0,135
	Macroplaquetas	2	25,0%	0	0,0%	0,186
T180	Policromasia (+)	3	37,5%	1	16,7%	0,393
	Eritroblastos (3)	5	62,5%	1	16,7%	0,086
	Leucócitos (100)	5	62,5%	1	16,7%	0,086
	Macroplaquetas	2	25,0%	0	0,0%	0,186

Dados apresentados em frequência absoluta (n) e relativa (%), Teste de Qui-quadrado de Pearson.

Em relação as análises histológicas / imunohistoquímica não existem diferenças significativas entre os grupos. O fígado exhibe arquitetura preservada, discreto edema e infiltrado linfocitário portal que pode-se dever a manipulação cirúrgica. Alguns animais nos dois grupos mostram discreta balonização hepatocitária em zona 3, notando-se ainda congestão sinusoidal que também se concentra nesta região. (Figuras 11 e 12) Nenhum dos animais em nenhum dos dois grupos mostrou necrose hepatocitária significativa e não foi observada fibrose que foi avaliada pela coloração de Masson. A quantificação da apoptose, está descrita na Tabela 11.

Figura 11: Microfotografia exemplificando os animais do grupo 1 (animal 7). Coloração de hematoxilina e eosina (200x). (B) Avaliação de apoptose pela técnica de TUNEL (400x).

Figura 12: Microfotografia exemplificando os animais do grupo 2 (animal 12).
Coloração de hematoxilina e eosina (A) e avaliação de apoptose pela técnica de TUNEL
(B)

5 DISCUSSÃO

Nos Estados Unidos mais de 230.000 óbitos anuais estão relacionados às doenças do trato digestório⁶⁰. Diante disso, modelos experimentais de animais são imperativos como alvo de pesquisa para aperfeiçoamento e comprovação de técnicas e procedimentos já existentes, como também para o desenvolvimento de outros, permitindo a compreensão dos diversos processos fisiológicos e patológicos que os acompanham.

O porco representa o modelo ideal para este tipo de estudo, já que a fisiopatologia gastrointestinal é muito semelhante à humana, sendo largamente utilizado para experimentos que envolvam lesões de isquemia e reperfusão, disfunção intestinal induzida por estresse, síndrome do intestino curto e transplantes de intestino.⁶¹ Além disso, esse animal não provoca grande rejeição social, tendo em vista que ele é raramente utilizado como animal de estimação e é utilizado como alimento. Em função dessas características, a transposição dos resultados desses animais pode mimetizar os resultados presentes na espécie humana.

Dentre esses procedimentos, destacamos o transplante multivisceral, representando a maior cirurgia do aparelho digestório. Realizado por Starzl na década de 60, demonstrou desde o início ser uma técnica factível, entretanto, devido ao incompleto conhecimento das inúmeras variáveis envolvidas, tentativas futuras ainda apresentaram resultados insatisfatórios².

Com o advento do imunossupressor FK506 e o avanço das técnicas cirúrgicas, ensaios clínicos de transplantes intestinais propiciaram um retorno para realização de

transplantes multiviscerais. Em função da complexidade e da dificuldade apresentadas durante o transplante, poucas informações existem do manuseio desses pacientes durante o procedimento^{10,11}.

Diante disso, um melhor conhecimento hemodinâmico regional e sistêmico proporcionará adequado manejo neste tipo de cirurgia, levando a uma melhor sobrevivência peri e pós-operatória.

O restabelecimento da autonomia nutricional a longo prazo, a qualidade de vida restaurada e a melhoria das condições socioeconômicas são marcos alcançáveis na maioria dos sobreviventes.⁶²

5.1. Contextualizando o Laboratório de Investigação Médica (LIM 37)

O LIM 37 segue linha de pesquisa experimental animal translacional em transplante. Esse laboratório tem especial tradição em pesquisa de transplante de intestino e multivisceral em rato, cachorro (até 2006, ano em que foi proibida a pesquisa nesse animal), porco e coelho. Em rato, descrevemos modelos inéditos de técnica microcirúrgica do transplante multivisceral modificado⁶³, transplante de intestino e cólon,^{64,65} transplante de intestino com técnica microcirúrgica sem sutura (Cuff-Glue)⁶⁶ (103), transplante de intestino, cólon e ânus,⁶⁷ transplante de intestino em ratos não isogênicos,⁶⁸ transplante anorretal^{69,70,71,72} e transplante de assoalho pélvico.⁷²

O roedor é uma das principais espécies para a evolução da pesquisa científica experimental básica, estando presente em mais de 90% deste tipo de pesquisa devido ao seu menor custo, ao menor espaço para sua manutenção, à facilidade técnica e

principalmente pela possibilidade do uso de animais isogênicos, o que permite a realização de pesquisas com grande exatidão metodológica.⁷³ Contudo, a translação dos resultados do roedor para a prática clínica é reprovável bioeticamente, pois as reações metabólicas dos roedores são diferentes daquelas dos seres humanos.⁷³

Assim, sobre o ponto de vista bioético, antes de aplicar resultados conseguidos em roedor, é necessária a realização de pesquisa pré-clínica com a utilização de animais de médio porte, especialmente o porco, devido às semelhanças metabólica, fisiológica e anatômica com os seres humanos.⁷³ O genoma do porco tem 60% de sequência homóloga à humana, se comparado a 40% de roedores.^{74,75}

Em nosso laboratório, também descrevemos modelos inéditos em animais pré-clínicos como de transplante isolado em cão⁷⁶ e xenotransplante multivisceral em cachorros coelho e porco^{77,78,79,80}. O desenvolvimento da linha de pesquisa de xenotransplante multivisceral discordante, no qual descrevemos pela primeira vez os detalhes da rejeição hiperaguda foi motivo de importante impacto científico e foi destacada por artigo comentário sobre o assunto publicado pelo grupo da Universidade de Pittsburgh, na prestigiada revista *Xenotransplantation*⁷⁸. Vale ressaltar que nesse modelo verificamos alterações hemodinâmicas mínimas após a reperfusão porque o enxerto foi implantado de modo heterotópico, sem a retirada das vísceras abdominais do receptor. Assim, podemos avaliar a evolução da rejeição hiperaguda no xenotransplante até 3 horas, sem mortalidade do receptor.

Em porco realizamos pesquisa pré-clínica de transplante anorretal⁷⁹ e autotransplante de fígado.⁸⁰

A abrangência da presente tese inclui a criação de modelo experimental pré-clínico inédito que reproduz as alterações hemodinâmicas, metabólicas e histopatológicas das duas técnicas do transplante multivisceral modificado. Esse modelo translacional só foi iniciado após o treinamento adequado da equipe multidisciplinar que incluiu médicos de várias especialidades, veterinários, enfermeiros, biólogos, biomédicos, farmacêuticos, dentre outros.

O desenvolvimento desse modelo vem de encontro ao interesse da Disciplina de Transplante de Fígado e Órgãos do Aparelho Digestivo do HC-FMUSP em ampliar o seu programa clínico de transplantes de intestino e multivisceral iniciado em 2014. O referido programa é fundamentado pelas pesquisas experimentais desenvolvidas em nosso laboratório que, além da produção científica, serve de treinamento aos cirurgiões e à equipe multidisciplinar que atua no transplante clínico.

Até o momento, nosso grupo realizou dois transplantes multiviscerais e um transplante de intestino isolado, com sobrevivência de 7 dias, 31 dias e 14 meses⁸¹, respectivamente. Sendo este último o com maior sobrevivência no Brasil. Portanto o presente modelo propicia o adestramento das equipes clínica, cirúrgica, anestésica e intensiva, visando melhorar os resultados e difundir uma outra modalidade de transplante, inédita em nosso país.

5.2 Efeitos hemodinâmicos durante processo de evisceração abdominal

Dentre os estudos que avaliaram os efeitos hemodinâmicos durante o processo de evisceração no TxMv, destacamos o realizado por Cruz Junior e col, 2009⁴⁴, que ressaltaram como as principais causas de óbito o sangramento e as alterações metabólicas e hemodinâmicas decorrentes da evisceração. No TxMvm ainda não existe este tipo de análise, reforçando-se a necessidade do presente estudo.

As alterações anatômicas modificam a hemodinâmica macro e microrregional, sendo esperado que os candidatos ao TxMvm sigam uma tendência à instabilidade hemodinâmica durante o procedimento, mesmo porque grande parte deles apresentam condições como baixa resistência vascular sistêmica e redução da pressão arterial, que são características típicas da circulação hiperdinâmica.

Na verdade, o quadro hiperdinâmico, em que há elevação do débito cardíaco, está sobreposto à hipovolemia real durante a evisceração dos órgãos abdominais, com consequente redução do índice de volume sanguíneo total (TBVI – *total blood volume index*).

A monitorização hemodinâmica (MH), portanto, é um importante arsenal para o cuidado do paciente gravemente enfermo. O conhecimento da função cardiovascular e o seguimento das diversas intervenções terapêuticas tornam as técnicas de MH fundamentais para o desfecho destes pacientes, principalmente dos submetidos às cirurgias de grande porte, como é o caso do TxMvm.

Desta forma, é imperioso monitorar fidedignamente as variáveis do status circulatório do paciente, particularmente o DC, que é o grande responsável pelo transporte de oxigênio para os tecidos. Sua determinação é útil a fim de estabelecer o diagnóstico, orientar a terapia e definir o prognóstico do paciente.

Várias são as formas de controle dos parâmetros cardiovasculares, porém o CAP ainda é considerado o padrão-ouro para este fim.

Particularmente o TxMvm continua desafiador do ponto de vista cirúrgico e anestésico, pois as modificações da hemodinâmica podem impactar sobremaneira o desfecho do procedimento.

No modelo apresentado, existiu uma queda de aproximadamente 30% do DC em ambos os grupos ao longo das 3 horas após a evisceração⁸² justificada por ser este o volume de sangue no território esplâncnico, e na comparação entre os mesmos, esta queda foi mais acentuada no grupo 2 a partir do T120, possivelmente devido ao represamento de sangue no baço.

O sucesso cirúrgico do TxMvm depende claramente da estabilidade hemodinâmica durante a cirurgia, que se traduzirá em adequada DO_2 para os tecidos.

Nesta pesquisa, a DO_2 reduziu-se ao longo do tempo em ambos os grupos. O resultado baseia-se na condição de redução drástica do volume circulante durante a experiência.

No grupo 2, a DO_2 caiu antes que o grupo 1, possivelmente porque o baço preservado reduz a quantidade de hemáceas circulantes, e portanto, ocorre diminuição do conteúdo arterial de oxigênio.

A chance de óbito nestes transplantes, geralmente associada ao sangramento e às alterações hemodinâmicas e metabólicas, torna-se ainda mais perigosa em pacientes hipovolêmicos. Daí a premência em se otimizar a pré-carga, mas também impedindo o indesejável edema pulmonar.

Isto posto, a PAM no grupo 2 foi menor na primeira hora, em comparação com o grupo 1. Provavelmente neste período a queda do débito cardíaco foi mais acentuada no grupo 2 devido ao represamento de sangue para o baço. A PAM recuperou-se após, seguramente pela ativação de sistemas compensatórios neuro-humorais reflexos.⁸³

Em relação ao controle volêmico, analisando-se portanto a pressão de oclusão da artéria pulmonar, em ambos os grupos a mesma decresceu, em resposta à redução do volume de sangue circulante. Leva-se em consideração que a PAOP é um bom indicativo da pressão do átrio esquerdo. Este, por sua vez, reflete o volume diastólico do ventrículo esquerdo, retratando uma boa mensuração da pré-carga. Este efeito (queda da PAOP) foi ainda mais precoce no grupo 1, em que o baço é retirado.⁸⁴

Coincidindo com o fato de que a PAM mostrou-se mais baixa no grupo 2, as resistências vasculares sistêmica e pulmonar (RVS/ RVP) aumentaram também a partir da primeira hora, somente no grupo em que o baço é preservado.

Em relação ao fluxo da artéria hepática, foi possível observar um valor sustentado em ambos os grupos a partir do T60, que pode ser explicado pelo mecanismo regulador da artéria hepática (HABR), uma vez que a redução do fluxo portal promove aumento do fluxo na artéria hepática, conforme Lautt et al. Efeito este que é um mecanismo de regulação intrínseco do fígado funcionalmente preservado, com o intuito de manter o fluxo hepático quando a perfusão portal diminui. Sendo mediado pela adenosina, esta autorregulação tende a manter as pressões intra-hepáticas, a depuração de fármacos e os hormônios estáveis.^{45,85}

Nos resultados apresentados, observou-se que o fluxo da artéria hepática, na comparação transversal, apresenta diferenças com significância estatística entre os grupos, provavelmente pois no grupo 2 existe a preservação esplênica e consequentemente o fluxo portal, embora reduzido, ainda é presente, diminuindo o efeito regulador intrínseco da adenosina. Um outro fator muito pouco estudado seria o possível efeito estimulador basal das drogas anestésicas interferindo neste autocontrole.

As demais variáveis hemodinâmicas não apresentaram alterações significativas na comparação entre os grupos, com exceção da POAP, demonstrando que apesar da queda do débito cardíaco, os animais se comportam de maneira semelhante ao longo do estudo.

Em relação aos fatores intraoperatórios, observou-se que entre os grupos não existiram diferenças relacionadas ao peso do animal, ao peso do explante e à produção de bile ao longo do experimento, sendo este considerado um marcador da função

hepática. Sobre o balanço hídrico, os grupos evoluíram de forma similar e a diurese foi menor no grupo 1.

O menor volume urinário justifica-se porque a esplenectomia retirou parte do volume efetivo circulante junto ao órgão explantado, levando à ativação de sistemas compensatórios, como o renina-angiotensina-aldosterona e o hormônio antidiurético, com consequente vasoconstrição da arteríola eferente renal e, assim, queda na pressão de filtração glomerular e conseguinte redução da diurese.^{84,86}

Todas as manobras intraoperatórias realizadas impactam diretamente nas variáveis fisiológicas observadas no pós-operatório.

Por exemplo, constatou-se que o consumo VO_2 caiu sustentadamente nos dois grupos a partir da primeira hora.

Este dado remete ao significado de que a DO_2 crítica foi ultrapassada, quando então a extração de O_2 é máxima e futuras quedas na DO_2 não podem mais ser compensadas, levando à consequente redução de VO_2 .⁸⁷

Desta maneira, se a oferta diminuir além da DO_2 crítica, iniciar-se-á a hipóxia tecidual, desencadeando o metabolismo anaeróbio, a fim de se tentar suportar uma limitada produção de ATP e manter a vida celular. No entanto, tal via de produção de ATP é menos eficaz que a aeróbia e tem por resultado grande produção de lactato, dado que foi comprovado no estudo, com maiores níveis no grupo 1, coincidindo com a negativação de BE mais pungente. Diferentemente, no grupo 2 a intensidade de metabolismo anaeróbio foi menor, como demonstrado pela queda de lactato em T180.⁸⁶

A acidose metabólica e a hiperlactatemia são considerados potentes depressores miocárdicos, que podem levar a distúrbios hemodinâmicos significativos, conforme descrito por Cruz et al.⁴⁵ O sangramento pós-operatório é uma grande preocupação do cirurgião no que concerne ao sucesso do procedimento. Foi avaliado, portanto, o perfil de coagulação em ambos os grupos.

Tanto o grupo 1 como o grupo 2 apresentaram alargamento do tempo de protrombina, sem diferença estatística.

Coincidindo com este dado, o TP% reduziu-se nos dois grupos. Entretanto, constatou-se queda mais acentuada no grupo em que o baço foi retirado (grupo 1), fato explanado por este ser um grande compartimento plaquetário além da medula óssea, retendo 30% do volume de plaquetas circulantes.

Comprovando esta teoria, constatou-se a redução do número de plaquetas no grupo sem o baço, o que por conseguinte gerou limitação da atividade dos demais fatores de coagulação.

No que tange à atividade do fator V (FV%), esta reduziu-se no grupo 1 a partir de T120, diferentemente do grupo 2, a qual comportou-se com estabilidade, provavelmente porque o baço preservado foi responsável por manter normal a cascata de coagulação.

A tendência das alterações de coagulação não acarretou, entretanto, na modificação dos níveis de hemoglobina em ambos os grupos.

Da mesma forma, os dois grupos não apresentaram alteração longitudinal nem transversal no estudo da bioquímica, como TGO e TGP.

Ainda no campo hematológico, houve mais segmentados e bastonetes evidenciados no sangue do grupo 1 ao final do estudo, provavelmente devido à resposta inflamatória em função de sua maior complexidade cirúrgica.

Observou-se ainda menos linfócitos na periferia, durante os três tempos no grupo 1 em comparação com o grupo 2, já que a retirada do baço levou consigo parte do *pool* de linfócitos.

Um dos questionamentos acerca da conclusão desta tese diz respeito à comparabilidade das duas cirurgias, no que tange à preservação da função hepática.

A função hepática está estritamente relacionada à DO_2 hepática, que declinou progressivamente em ambos os grupos, sem diferença significativa.

Neste estudo, os dois grupos experimentaram redução da TEO_2 hep, a qual é reflexo de má perfusão tecidual, deduzindo-se que a DO_{2hep} hep caiu até seu nível crítico (DO_2 crit).^{87,88}

Infere-se, por conseguinte, que o prolongamento do tempo de evisceração poderia acarretar no alcance da DO_2 crítica, com consequente dano hepatocelular.

O ChO_2 caiu ao longo do tempo no grupo 2, possivelmente porque houve maior consumo regional pelo baço preservado, devolvendo assim, menos oxigênio para a circulação regional. Embora a queda do ChO_2 esteja relacionada à redução do fluxo de bilirrubina, não se observou tal queda durante o tempo analisado.

Um modo de prever a disfunção hepática é o uso da saturação de oxigênio na veia hepática. Quando menor que 25%, a mesma é preditora de disfunção hepática, dado este que não foi observado em ambos os grupos.⁸⁸

A capacidade de clarear o lactato traduz o bom funcionamento hepático, como pôde-se observar através da estabilidade, ao invés de aumento, dos níveis do lactato nos grupos estudados.

Foi necessário também incluir no presente estudo a avaliação minuciosa das alterações mitocondriais hepáticas, visando observar possíveis prejuízos à produção de energia, decorrentes dos procedimentos cirúrgicos.

A avaliação da função mitocondrial é estudo mais sensível que os exames laboratoriais. A mitocôndria é a principal organela da respiração celular e oferece o substrato energético das células, a adenosina trifosfato (ATP). Portanto, o funcionamento adequado dessa organela é fundamental para a viabilidade do tecido e por este motivo é utilizado em diversos modelos experimentais.⁸⁹

Já é conhecido que as alterações mitocondriais que ocorrem durante o período de reperfusão hepática no transplante são consideradas como bons indicadores das lesões por isquemia e reperfusão, por estarem intimamente associadas à lesão da microcirculação hepática.⁸⁹

A produção de energia (ATP) é uma das principais funções do hepatócito, através da respiração mitocondrial, que apresenta as fases (*states*) S3 e S4. A fase S3 (estado de respiração ativada ou dependente de prótons) representa a taxa de consumo de oxigênio na presença de ADP. Já S4 (respiração mitocondrial basal ou respiração dependente do vazamento de próton) representa a taxa de consumo de oxigênio após a síntese de ATP e reflete o grau de acoplamento entre respiração mitocondrial e produção de ATP.^{90,91,92,93}

A relação entre a velocidade de respiração após a adição de ADP (estado 3) e a velocidade do estado basal (estado 4), obtida após consumo de ADP, fornece a razão de controle respiratório (RCR). Esta relação representa a eficiência energética mitocondrial.⁸⁹

A RCR é medida da certeza do acoplamento entre a transferência de elétrons pela cadeia respiratória e a fosforilação oxidativa, indicando a qualidade da preparação mitocondrial e sua capacidade em acelerar a respiração sob condições de demanda de energia.⁹⁴

Pode-se medir o consumo de O_2 em mitocôndrias com a intenção de refletir o estímulo do consumo de O_2 (estado 3) obtido pela adição de ADP, seguido por diminuição na taxa respiratória devido ao seu consumo (estado 4).⁹³

Valores baixos de RCR indicam alterações em um ou mais elementos da cadeia respiratória e, portanto, do estado energético celular.⁹⁵

Quando o tecido sofre isquemia total, as reservas de ATP continuam sendo metabolizadas em ADP e fosfato. Se há acúmulo de ADP, há estímulo à respiração, que não pode ser ativada, pois não há oferta de O_2 . Então, a taxa de fosforilação diminuirá, não se restabelecendo os estoques celulares de ATP, levando à morte celular por perda de sua integridade.^{96,97}

No presente estudo, em T180, o grupo 1 apresenta maior valor de S4 em comparação ao grupo 2, pois o estado respiratório oxidativo está aumentado. Provavelmente isto se deve pelo maior explante promovido no grupo 1. Valores maiores no estágio 4 indicam perda ou vazamento de prótons (dissipação do potencial de

membrana mitocondrial (MMP), com consequente desacoplamento da fosforilação oxidativa do ADP, diminuindo a eficiência da síntese de ATP.⁹¹

O desacoplamento mitocondrial (entre o transporte de elétrons e a síntese de ATP) é uma estratégia fisiológica para a redução do estresse oxidativo e consiste na dissipação do gradiente de prótons formado no espaço intermembranas. Os reflexos celulares deste processo são basicamente uma menor geração de ATP, bem como uma aceleração da cadeia transportadora de elétrons, a fim de retomar o gradiente de prótons previamente dissipado.^{98,99,100,101, 102}

Já no grupo 2, S4 menor indica que a mitocôndria é capaz de manter uma força de potencial de membrana ou força prótons (pmf) no transporte de elétrons.

O número da amostra pode ser considerado uma limitação, visto que, algumas variáveis mostraram uma tendência estatística, no entanto, a amostra inicial (14 porcos) foi projetada por uma análise estatística prévia.

Não se utilizaram, neste estudo, porcos selecionados geneticamente com a finalidade de reproduzir a heterogeneidade dos potenciais receptores de órgãos, entretanto, destaca-se que os animais não apresentam patologias prévias, podendo não representar as diferenças fisiológicas e condições hemodinâmicas em um estágio terminal de disfunção que necessite de um transplante multivisceral modificado.

Normalmente, nos casos em que se necessita de transplante, existem graus de disfunção orgânica, sugerindo que o manejo nesses casos, seja de maior dificuldade. Mesmo assim, o ganho no conhecimento experimental dessas situações proporcionará um melhor conhecimento em situações críticas, por partes das equipes anestésicas, cirúrgicas e intensiva.

Diante do acima exposto, e inspirados pela consistência dos presentes resultados, continuaremos essa linha de pesquisa para melhorar o entendimento das reações metabólicas e hemodinâmicas no transplante multivisceral modificado, formulando propostas para a elucidação de dúvidas na prática clínica.

6 CONCLUSÃO

O modelo descrito nesta tese foi efetivo em observar as alterações hemodinâmicas, metabólicas e histopatológicas da evisceração em ambas as técnicas do TxMvm. A evisceração abdominal foi associada a alterações hemodinâmicas sistêmicas e regionais significativas e apesar da redução do DC, os marcadores metabólicos e bioquímicos de lesão hepática permaneceram inalterados ao final do estudo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- LILLEHEI, RC; GOOT, B; MILLER, F. The Physiological Response of the Small Bowel of the Dog to Ischemia Including Prolonged in Vitro Preservation of the Bowel with Successful Replacement and Survival. *Annals of Surgery*. 1959,59:543-559.

2- STARZL, TE, KAUPP, HA. Mass homotransplantation of abdominal organs in dogs. *Surg Forum*. 1960,11:28-30.

3- MONCHIK, GJ; RUSSEL, PS. Transplantation of small bowel in rat: Technical and immunological considerations. *Surgery*. 1971,70:693-702.

4- LILLEHEI, RC; IDEZUKI, Y; FEEMSTER. Transplantation of the stomach, intestine and pancreas: Experimental and clinical observations. *Surgery*. 1967,62:721-741.

5- OKUMURA, M; FUJIMURA, I; FERRARI, AA. Transplante de intestino delgado: Apresentação de um caso. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 1969,2D:39-54.

6- ALICAN, F; HARDY, JD; CAYIRLI, M. Intestinal transplantation: Laboratory experience and report of a clinical case. *Am J Surg*. 1971,121:105-107.

- 7- CALNE, RY. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet*. 1979,2(8151): 1033-1036.
- 8- COHEN, Z; SILVERMAN, RE; WASSEF, R. Small intestinal transplantation using cyclosporine: Report of a case. *Transplantation*. 1986,42:613.
- 9- GRANT, D; WALL, W; MIMEAULT, R; ZHONG, R; GHENT, C; GARCIA, B, et al. Succesful small-bowel/liver transplantation. *Lancet*. 1990, 335(8683):181-184.
- 10- MURASE, N; DEMETRIS, AJ; MATSUZAKI, T. Long survival in rata after multivisceral versus isolated small bowel allotransplantation under FK506. *Surgery*. 1991,110:87-98.
- 11- YOSHIMI, F; NAKAMURA, K; ZHU, Y. Canine total orthotopic small bowel transplantation under FK506. *Transplant Proc*. 1991,23:3240-3242.
- 12- TODO, S; TZAKIS, AG; ABU-ELMAGED, K. Cadaveric small bowel and small bowel-liver transplantation in humans. *Transplantation*. 1992,53:369-376.
- 13- VAIZEY, CJ, MAEDA Y, BARBOSA E, BOZZETTI F, CALVO J, IRTUM O, et al. European Society of Coloproctology consensos on the surgical management of intestinal failure in adults. *Colorectal Dis*. 2016 Jun;18(6):535-48.

- 14- GOULET, O; RUEMMELE, F; LACAILLE, F; COLOMB, V. Irreversible intestine failure. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004,38(3):250-269.
- 15- DUDRICK, SJ; WILMORE, DW; VARS, HM; RHOADS, JE. Long term total parenteral nutrition with growth, development, and positive nitrogen balance. *Surgery.* 1968,64:134-142.
- 16- HOFSTETTER, S; STERN, L; WILLET, JK. Key issues in addressing the clinical and humanistic burden of short bowel syndrome in the US. *Curr Med Res Opin.* 2013, 29(5):495-504.
- 17- SUDAN, D. Cost and quality of life after intestinal transplantation. *Gastroenterology.* 2006,130(2 Suppl1):S158-162.
- 18- VIANNA, RM; MANGUS, RS; TECTOR, AJ. Current status of small bowel and multivisceral transplantation. *Adv Surg.* 2008,42:129-150.
- 19- HOWARD, L; HASSAN, N. Home parenteral nutrition. 25 years later. *Gastroenterol Clin North Am.* 1998,27:481-512.

- 20- ABU-ELMAGED, KM; COSTA, G; BOND, GJ; SOLTYS, K; SINDHI, R; WU, T; KORITSKY, DA, et al. Five Hundred Intestinal and Multivisceral Transplantation at a Single Center. *Annals of Surgery*. 2009, 4; 567-581.
- 21- GUPTE, GL; BEATH, SV. Update on intestinal rehabilitation after intestinal transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009,14(3):267-273.
- 22- MAZARIEGOS, GV; STEFFICK, DE; HORLEN, S; FARMER, D; FRYER, J; GRANT, D. Intestine transplantation in the United States, 1999-2008. *Am J Transplant*. 2010,10(4):1020-1034.
- 23- GRANT, D; ABU-ELMAGED, KM; MAZARIEGOS, G; VIANNA, R; LANGNAS, A; MANGUS, R, et al. Intestinal Transplant Registry Report: Global Activity and Trends. *American Journal of Transplantation*. 2015,15:210-219.
- 24- IASI M, SOLER WV, IASI MSF, FAVERO SSG, CORDOVANI NTB, RITTES JC, et al. Transplante de intestino é uma realidade! *J Brás Transpl*. 2001;3:11-3.
- 25- DA SILVA RF, DE PAULA AC, ARROYO PC JR, GONZALES AM, MARCHINI JS, DUCA WJ, DE FARIA WL, et al. Report of initial experience in small bowel transplantation at São José do Rio Preto Medical School Hospital. *Transplant Proc*. 2008;40(3):827-9.

- 26- CALIL, IGOR; PECORA RAFAEL A.; LEE, ANDRE D.; DAVID, ANDRE; ROCHA, VINICIUS S; BRONZE, RODRIGO M, et al. The Multivisceral Transplant Program at University of São Paulo Medical School-Brazil. *Transplantation*. 2015; 99: S97.
- 27- GALVÃO FH, LEE AD, PINHEIRO R, MACEDO R, BRONZE, NACIF L, et al. Intestinal and multivisceral transplantation at hospital das clinicas da faculdade de medicina da universidade de Sao Paulo (HCFMUSP) – Brazil. Abstract submetido ao Congresso da Associação de Reabilitação e Transplante Intestinal da Sociedade Internacional de Transplante 2019 (CIRTA 2019) Paris 3-6 de Julho de 2019.
- 28- ABU-ELMAGED, K. The Small Bowel Contained Allografts: Existing and Proposed Nomenclature. *American Journal of Transplantation*. 2011,11:184-185.
- 29- GRANT, D; ABU-ELMAGED, K; REYES, J; TZAKIS, A; LANGNAS, A; FISHBEIN, T et al. Report of the Intestine Transplant Registry - A new Era has Dawned. *Annals of Surgery*. 2005,241(4):607- 613.
- 30- ABU-ELMAGED, K; KOSMACH-PARK, B; COSTA, G; ZENATI, M; MARTIN, L; KOTITSKY, DA, et al. Long-Term Survival, Nutrition Autonomy, and Quality of Life After Ontestinal and Multivisceral Transplantation. *Annals of Surgery*. 2012, 256(3):494-508.

- 31- ABU-ELMAGED, K. Intestinal transplantation for short bowel síndrome and gastrointestinal failure: current consensus, rewarding outcome, and practical guidelines. *Gastroenterology*. 2006,130(2):S132-137.
- 32- QUINTINI, C; WARD, G; SHATNAWEI, A. Mortality of intra-abdominal desmoid tumors in patients with familial adenomatous polyposis: a single center review of 154 patients. *Ann Surg*. 2012,255(3):511-516.
- 33- GOULET, O; COLOMB-JUNG, V; JOLY, F. Role of the colon in short bowel syndrome and intestinal transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009,48(2):66-71.
- 34- CRUZ JR RJ, COSTA G, BOND G, SOLTYS K, STEIN WC, WU G, ET AL. Modified “liver-sparing” multivisceral transplant with preserved native spleen, pancreas, and duodenum: technique and long-term outcome. *J Gastrointest Surg*. 2010;14:1709-21.
- 35- KATO, T; TZAKIS, AG; SELVAGGI, G. Transplantation of the spleen: effects of splenic allograft in human multivisceral transplantation. *Ann Surg*. 2007,246(3):436-444.
- 36- ABU-ELGEMAD, K; REYES, J; TODO, S. Clinical intestinal transplantation: new perspectives and immunologic considerations. *J Am Coll Surg*. 1998,186:512-527.

- 37- ABU-ELMAGED, K; REYES. J; BOND, G. Clinical intestinal transplantation: A decade of a single center experience. *Ann of Surg.* 2001,234(3):404-417.
- 38- ABU-ELMAGED, K. Preservation of the native spleen, duodenum, and pancreas in patients with multivisceral transplantation: Nomenclature, dispute of origin, and proof of premise. *Transplantation.* 2007,84(9):1208-1209.
- 39- LIU, H; LEE,S. Cardiopulmonary complications of cirrhosis: cardiopulmonary dysfunction in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol.*1999,14:600.
- 40- GIDWANI, UK; MOHANTY, B; CHATTERJEE, K. The Pulmonary Artery Catheter: A critical reappraisal. *Cardiol Clin.* 2013,31:545-565.
- 41- DIAS, FS; REZENDE, E, AC; MENDES, CL; SILVA, JM; SANCHES, JL. Monitorização hemodinâmica em unidade de terapia intensiva: uma perspectiva do Brasil. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2014,26(4):360-366.
- 42- AHMAD, T; BEILSTEIN, CM; ALDECOA, C; MORENO, RP; MOLNÁR, Z; NOVAK-JANKOVIC, V, et al. Variation in haemodynamic monitoring for major surgery in European nations: secondary analysis of the EuSOS dataset. *Perioperative Medicine.* 2015,23:4-8.

- 43- CHUNGFAT, N; DIXLER, I; COHRAN, V; BUCHMAN, A; ABECASSIS, M; FRYER, J. Impact of Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease on Intestinal Transplant Waitlist Dynamics. *J Am Coll Surg*. 2007, 205(6):755-61.
- 44- PINSKY, MR. Why measure cardiac output? *Crit Care*. 2003,7(2):114-116.
- 45- CRUZ JUNIOR, RJ; GARRIDO, AG; ROCHA E SILVA, M. Early hemodynamics and metabolic changes after total abdominal evisceration for experimental multivisceral transplantation. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2009, 24:156-161.
- 46- KOMODATA, T; NISHIDA, S; OGATA, S; HAMADA, N; IKOMA, A; TANAKA, et al. Abdominal multivisceral transplantation in pigs. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2000,7(2):188-192.
- 47- KUMAR, A; ANEL, R; NUNNELL, E. Pulmonary artery occlusion pressure and central venous pressure fail to predict ventricular filling volume, cardiac performance, or the response to volume infusion in normal subjects. *Crit Care Med*. 2004,32:691.
- 48- CONNORS, AF; MCCAFFREE, DR; GRAY, BA. Evaluation of right-heart catheterization in the critically ill patient without acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1983,308(5):263-267.

- 49- STEINGRUB, JS; CELORIA, G; VICKERS-LAHTI, M; TERES, D; BRIA, W. Therapeutic impact of pulmonar artery catheterization in a medical/surgical ICU. *Chest*. 1991,99(6):1451-1455.
- 50- COLES, NA; HIBBERD, M; RUSSEL, M; LOVE, T; ORY, D; FIELD, TS. Potential impact of pulmonar artery catheter placement on short-term management decisions in the medical intensivio care unir. *Am Heart J*. 1993,126(4):815-819.
- 51- MIMOZ, O; RAUSS, A; REKIK, N; BRUN-BUISSON, C; LEMAIRE, F; BROCHARD, L. Pulmonary artery catheterization in critically ill patients: a prospective analysis of outcome changes associated with catheter-prompted changes in therapy. *Crit Care Med*. 1994,22(4):573-579.
- 52- DIAZ, S; PEREZ-PENA, J; SANZ, J. Haemodynamic monitoring and liver function evaluation by pulsion cold system Z-201 (PCS) during orthopic liver transplantation. *Clin Transplant*. 2003,17:47.
- 53- GIDWANI, UK; MOHANTY, B; CHATTERJEE, K. The Pulmonary Artery Catheter: A critical reappraisal. *Cardiol Clin*. 2013,31:545-565.
- 54- REINHART, K; BLOOS, F. The value of venous oxymetry. *Curr Opin Crit Care*. 2005,11(3):259-63.

- 55- MAGDER, S. Invasive Hemodynamic Monitoring. Crit Care Clin. 2015, 31:67-87.
- 56- TORGAY, A; PIRAT, A; AKPEK, E; ZEYNELOGLU, P; ARLAN, G; HABERAL, M. Pulse Contour Cardiac Output System Use in Pediatric Orthotopic Liver Transplantation: Preliminary Report of Nine Patients. Transplantation Proceedings. 2005, 37:3168-3170.
- 57- COELHO, AM; MACHADO, MC; SAMPIETRE, SN; LEITE, KR; OLIVEIRA, VL; PINOTTI HW. Hepatic damage during acute pancreatitis in the rat. Braz J med Biol Res. 1997,30(8):947-953.
- 58- ESTABROOK, RW. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP/O rateios. In Estabrook RW & Pullman ME, eds. Methods in Enzymology. New York: Academic Press, 1967:41-47.
- 59- CHANCE B; WILLIAM GR;. A simple and rapid assay of oxidative phosphorylation. Nature.1955,175:1120-1121.
- 60- LOWRY OH; ROSEBROUGH, NJ; FARR AL. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem.1951,193:265-275.
- 61 - PEERY AF, DELLON ES, LUND J, ET AL. Burden of gastrointestinal disease in the united states. Gastroenterology. 2012; 143:1179-87.

62- GONZALEZ, LM, MOESER, AJ, BLIKSLAGER AT. Porcine models of digestive disease: the future of large animal transacional research. Transl Res. July;166(1):12-27.

63- COSTA G, PAREKH N, OSMAN M, ARMANYOUS S, FUJIKI M, MD, ABU-ELMAGD K. Composite and Multivisceral Transplantation. Nomenclature, Surgical Techniques, Current Practice, and Long-term Outcome. Surg Clin N Am 2019; (99): 129–151.

63- GALVÃO FH, WAISBERG DR, CRUZ RJ JR, CHAIB E, CARNEIRO D'ALBUQUERQUE LA. Modified multivisceral transplantation in the rat. Transplantation. 2013 27;96:e 3-4.

64- GALVÃO FH, SANTOS RM, NETO AB, MACHADO MA, BACCHELLA T, MACHADO MC. Small bowel and colon transplantation in rats using porto-portal cuff anastomosis. Transplant Proc. 2006; 38(6):1842-3.

65- GALVÃO FH, SANTOS RM, MACHADO MA, BACCHELLA T, MACHADO MC. Simplified rat model of intestinal transplantation. Transplantation. 2005; 27;80:1522-3.

66- WAISBERG DR, GALVÃO FH, DE CASTRO GALVÃO R, CHAIB E, D'ALBUQUERQUE LA. Intestinal transplantation using cuff-glue sutureless technique for micro-anastomosis in rats. Microsurgery. 2011; 31(7):584-5.

- 67- GALVÃO FH, WAISBERG DR, DE MELLO VIANNA RM, DE CASTRO GALVÃO R, SEID VE, ANDRAUS W, ET AL. Intestinal transplantation including anorectal segment in the rat. *Microsurgery*. 2012; 32(1):77-9.
- 68- WAISBERG DR, LEE AD, SANTOS RM, MORY EK, COSTA AL, MONTERO EF, ET AL. Small bowel transplantation in outbred rats. *Acta Cir Bras*. 2011; 26(6): 496-502.
- 69- GALVÃO FH, SEID VE, NUNES DOS SANTOS RM, KITAMURA M, DE CASTRO GALVÃO R, AMBAR PINTO R, et al. Anorectal transplantation. *Tech Coloproctol*. 2009; 13(1):55-9.
- 70- SEID VE, GALVÃO FH, VAIDYA A, WAISBERG DR, CRUZ RJ JR, CHAIB E, et al. Functional outcome of autologous anorectal transplantation in an experimental model. *Br J Surg*. 2015 Apr;102(5):558-62.
- 71- GALVÃO FH, WAISBERG DR, SEID VE, COSTA AC, CHAIB E, CRUZ RJ, et al. Allogeneic anorectal transplantation in rats: technical considerations and preliminary results. *Sci Rep*. 2016 Aug 4;6:30894.
- 72- GALVAO, FH; WAISBERG, DR; SALEM, J; ARAUJO, BC; LEE, AD; SEID, VE, et al. Surgical Technique for Pelvic Floor Transplantation Transplantation. 2018; 102: S825.

- 73- GALVÃO FH, POMPEU E, PANAJOTOPOULOS N, SANTOS VR, BACCHELLA T, MACHADO MC. Orthotopic small intestine transplantation in dogs with systemic graft drainage. *Arq Gastroenterol*. 2005; 42(3):182-5.
- 74- THOMAS JW, TOUCHMAN JW, BLAKESLEY RW. Comparative analyses of multi-species sequences from target genomic regions. *Nature*. 2003; 424:788-93.
- 75- HUMPHRAY SJ, SCOTT CE, CLARK R. A high utility integrated map of the pig genome. *Genome Biol*. 2007; 8:R119.
- 76- SOLER WV, WAISBERG DR, POMPEU E, COSTA AC, CAPELOZZI VL, CHAIB E, ET AL. Multivisceral Xenotransplantation: The Effect of Different Species Combination Transplantation. 2018; 102: p S735.
- 77- GALVAO FH, SEID VE, WAISBERG DR, CRUZ RJ JR, HIRANO H, CATANOZI S, ET AL. An innovative model of autologous anorectal transplantation with pudendal nerve reconstruction. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012 Aug;67(8):971-2.
- 78- KUMAR G, EKSER B, ABU-ELMAGD KM, COOPER DK. Multivisceral xenotransplantation--does it have a future? *Xenotransplantation*. 2010 Nov-Dec;17(6):418-22.

- 79- GALVAO FH, SEID VE, WAISBERG DR, CRUZ RJ JR, HIRANO H, CATANOZI S, et al. An innovative model of autologous anorectal transplantation with pudendal nerve reconstruction. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012 Aug;67(8):971-2.
- 80- CANEDO BF, GALVAO FH, DUCATTI L, NACIF LS, CATANOZI S, SOLER WV, et al. Liver Autotransplantation in Pigs without Venovenous Bypass: A Simplified Model using a Supraceliac Aorta Cross-Clamping Maneuver. *Ann Transplant*. 2015 Jun 9;20:320-6.
- 81- I CALIL, RA PECORA, AD LEE, A DAVID, G ANDRADE, DUCATTI L, et al. The Multivisceral Transplant Program at University of Sao Paulo Medical School-Brazil. *Transplantation*. 2015; 99: S97-S97
- 82- CRUZ JUNIOR R, GARRIDO A, RIBEIRO C, HARADA T, ROCHA E SILVA M. Regional blood flow distribution and oxygen metabolism during mesenteric ischemia and congestion. *Journal of Surgical Research*. 2010;(161):54-61
- 83- Robbins & Cotran. *Fundamentos de Patologia*. 9.ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil; 2017.
- 84- Harrison. *Medicina Cardiovascular*. 2 ed. São Paulo: Artmed Editora; 2014.
- 85- LAUTT WW. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol*. 1985. Nov;249(5 Pt 1):549-56.

- 86- FIGUEIREDO LFP, SILVA E ,CORRÊA TD. Avaliação hemodinâmica macro e microcirculatória o choque séptico. Rev Med (São Paulo). 2008 abr.-jun.;87(2):84-91.
- 87- LUTZ JH, BAUEREISEN E. Oxygen supply and uptake in the liver and the intestine. Pflugers Arch. 1975 Oct 16;360(1):7-15.
- 88- ANTIBAS AF. Monitorização hemodinâmica em cirurgia cardíaca pediátrica. Arq. Bras. Cardiol. [Internet]. 2004 Feb [acesso 12 fevereiro 2018] ; 82(2): 199-208. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2004000200014&lng=en.
- 89- TAKANO H1. Monitoring of hepatic venous oxygen saturation for predicting acute liver dysfunction after Fontan operations. J Thorac Cardiovasc Surg. 1994 Oct;108(4):700-8.
- 90- MIRANDA LEC, VIARO F, CENEVIVA R, ÉVORA PRB. A atividade respiratória mitocondrial é um bom parâmetro para a lesão por isquemia e reperfusão hepática? Arq Gastroenterol. 2005; 42(2).
- 91- ROSSOW HA, ACETOZE G, CHAMPAGNE J, RAMSEY JJ. Medição de consumo de oxigênio mitocondrial hepática e cinética de vazamento de prótons para estimar a respiração mitocondrial no gado leiteiro de Holstein. University of California

Davis, Department of Molecular Biosciences, Veterinary Medicine Teaching and Research Center.

92- YOUNES RN, POGGETTI RS, FONTES B, ITINOSHE MM, YOSHIDA VM, CARVALHO MEA et al. Obstructive jaundice induces early depression of mitochondrial respiration in rat hepatocytes. *Acta Cir. Bras.* [Internet]. 2007 Aug [cited 2017 Ago 13] ; 22(4): 251-254. Disponível: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502007000400004&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502007000400004>.

93- OLIVEIRA CP1, COELHO AM, BARBEIRO HV, LIMA VM, SORIANO F, RIBEIRO C, et al. Liver mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of experimental nonalcoholic fatty liver disease. *J Med Biol Res.* 2006;39(2):189-94.

94- LEITE AZ, SIPAHI AM, DAMIÃO AO, COELHO AM, GARCEZ AT, MACHADO MC, et al. Protective effect of metronidazole on uncoupling mitochondrial oxidative phosphorylation induced by NSAID: a new mechanism. *Gut.* 2001;48(2):163-7.

95- HARTUNG KJ, JUNG K, MINDA R, KUNZ W. The mitochondrial respiratory function as indicator of the ischemic injury if the rat kidney. *Biomed Biochim Acta.* 1985;44:1435-43.

- 96- LEHNINGER AL, NELSON IL, COX MM. Fosforilação oxidativa e fotofosforilação. Princípios de bioquímica. 2 ed. São Paulo: Sarvier; 2000.
- 97- OLSON MS. Bionergetics and oxidative metabolism. Textbook of biochemistry: with clinical correlation, 3 ed. New York: Wiley-Liss; 1992.
- 98- CHAN TS, CASSIM S, RAYMOND VA, GOTTSCHALK S, MERLEN G, ZWINGMANN C, ET AL. Upregulation of Krebs cycle and anaerobic glycolysis activity early after onset of liver ischemia. PLoS One. 2018 Jun 14;13(6).
- 99- FERNANDES E SILVA E. Desacoplamento mitocondrial e estresse oxidativo em espermatozóides suínos resfriados. Monografia [Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Fisiologia Animal] - Universidade Federal do Rio Grande; 2014.
- 100- MARTIN DB, NICHOLLS DG. Assessing mitochondrial dysfunction in cell. Biochem J. 2011; 435(Pt 2): 297–312.
- 101- KOLIAKI C, SZENDROEDI J, KAUL K, JELENIK T, NOWOTNY P, JANKOWIAK F, et al. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. Cell Metab 2015;21(5):739-46.

102- IOJA S, SINGAMSETTY S, COREY C, GUO L, SHAH F, JURCZAK MJ, et al. Nocturnal Hypoxia Improves Glucose Disposal, Decreases Mitochondrial Efficiency, and Increases Reactive Oxygen Species in the Muscle and Liver of C57BL/6J Mice Independent of Weight Change. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; vol. 2018, Article ID 9649608, 12 pages.