

Transplante multivisceral em suínos: modelo de pesquisa e treinamento

Multivisceral transplantation in pigs: a model for research and training

André Ibrahim David¹, Valéria Vieira Chida², Andre Dong Won Lee¹, Felipe Soares Oliveira Rodrigues Fiuza³, Daniela Medeiros Calil³, Danielle de Carvalho Mantovani³, Eduardo Rullo Maranhão³, Gabriel Beligni Campi³, Juan Carlos Llanos⁴, Ben-Hur Ferraz Neto⁵

RESUMO

Objetivo: Apresentar um modelo de pesquisa e treinamento em transplante multivisceral em suínos. **Métodos:** Oito porcos da raça *Large White* (quatro doadores e quatro receptores) foram operados. O transplante multivisceral com estômago, duodeno, pâncreas, fígado e intestino foi realizado a semelhança do transplante em seres humanos com algumas diferenças descritas a seguir. Foram realizadas as anastomoses de veia cava supra-hepática do enxerto com a veia cava do receptor justa diafragmática término-terminal, veia cava infra-hepática do enxerto com a veia cava inferior (suprarrenal) do receptor término-terminal e patch da aorta do enxerto com a aorta infrarrenal do receptor término-lateral e reconstrução digestiva. **Resultados:** Foi possível a realização do transplante multivisceral nos quatro animais. A reperfusão do enxerto multivisceral levou a uma grave síndrome de isquemia-reperfusão, apesar do *flush* do enxerto. Os animais apresentaram hipotensão com necessidade de drogas vasoativas em altas doses, sendo todos sacrificados com a retirada dessas drogas. **Conclusão:** Alternativas para minimizar a síndrome de isquemia-reperfusão, como o uso de mais de uma droga vasoativa, uso de um terceiro porco apenas para transfusão sanguínea, presença de uma equipe de anestesia na sala de cirurgia e redução do enxerto, serão os próximos passos para possibilitar estudos experimentais.

Descritores: Transplantes/métodos; Vísceras/transplante; Modelos animais; Capacitação profissional; Suínos

ABSTRACT

Objective: To present a model for research and training in multivisceral transplantation in pigs. **Methods:** Eight Large White pigs (four donors and four recipients) were operated. The multivisceral transplant with

stomach, duodenum, pancreas, liver and intestine was performed similarly to transplantation in humans with a few differences, described below. Anastomoses were performed as follows: end-to-end from the supra-hepatic vena cava of the graft to the recipient juxta diaphragmatic vena cava; end-to-end from the infra-hepatic vena cava of the graft to the inferior (suprarrenal) vena cava of the recipient; and end-to-side patch of the aorta of the graft to the infrarenal aorta of the recipient plus digestive reconstruction. **Results:** The performance of the multivisceral transplantation was possible in all four animals. Reperfusion of the multivisceral graft led to a severe ischemia-reperfusion syndrome, despite flushing of the graft. The animals presented with hypotension and the need for high doses of vasoactive drugs, and all of them were sacrificed after discontinuing these drugs. **Conclusion:** Some alternatives to minimize the ischemia-reperfusion syndrome, such as the use of another vasoactive drug, use of a third pig merely for blood transfusion, presence of an anesthesia team in the operating room, and reduction of the graft, will be the next steps to enable experimental studies.

Keywords: Transplants/methods; Viscera/transplants; Animal models; Professional training; Swine

INTRODUÇÃO

A síndrome do intestino curto (SIC) é caracterizada pela má absorção em decorrência de extensas ressecções do intestino. Essa condição resulta na redução maciça da capacidade entérica de absorção de nutrientes, sendo necessária a nutrição artificial^(1,2).

Trabalho realizado no Serviço de Transplantes, Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil.

¹ Serviço de Transplantes do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo (SP), Brasil.

² Centro de Experimentação e Treinamento (CETEC), Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein - IIEPAE - São Paulo (SP), Brasil.

³ Curso de Graduação em Medicina da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – FCMSCSP, São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Programa de Transplante Hepático da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Botucatu (SP), Brasil.

⁵ Programa de Transplantes do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil.

Autor correspondente: André Ibrahim David – Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – Pinheiros – CEP: 05403-900 – Tel.: (11) 8133-5943 – e-mail: andredavidmd@gmail.com

Data de submissão: 28/12/2010 – Data de aceite: 1/8/2011

Conflito de interesse: não há

A incidência estimada da SIC é de dois a cinco indivíduos por milhão⁽¹⁾. Condições congênitas e perinatais, como atresia intestinal, enterocolite necrosante, gastrosquise e volvo são as causas mais frequentes em crianças. Nos adultos, as etiologias mais comuns são: infarto mesentérico, trauma abdominal, enterite por radiação e doença de Crohn⁽¹⁾.

O tratamento da SIC pode ser medicamentoso ou cirúrgico com o objetivo de aumentar a absorção intestinal. Os medicamentos para o tratamento da SIC visam aumentar a absorção intestinal, enquanto que as cirurgias têm por objetivo alongar o restante do intestino, permitindo o abandono da nutrição parenteral (NPE)⁽²⁾. A NPE permite que as crianças com SIC tenham um crescimento satisfatório durante o período de adaptação⁽³⁻⁶⁾. A NPE é associada a outras drogas e cirurgias para recuperar a função intestinal normal⁽⁷⁾. Estudos demonstram a importância da alimentação oral, pois aumenta a secreção gastrointestinal, a secreção do fator de crescimento de epiderme salivar e da motilidade da vesícula biliar⁽²⁾.

Um grupo crescente de pacientes requer NPE a longo prazo. Em alguns casos, as complicações resultantes tornam a NPE impossível, como por consequências de cateterismo de longa duração (complicações sépticas, trombose venosa), doença metabólica dos ossos, esteatose ou doenças hepáticas.

A alta mortalidade dessas complicações (atinge 20% em quatro anos)⁽⁷⁾ foi a causa para se estabelecer a indicação para transplante intestinal (TI) ou multivisceral (TMV), tanto em adultos⁽⁸⁾ como em crianças⁽⁹⁾. A necessidade do transplante deve ser considerado em: fígado terminal com falhas relacionadas a longa duração de NPE, falta de acesso venoso para continuar a NPE, episódios sépticos recorrentes relacionados ao acesso venoso central e causas inatas predominantes em pacientes pediátricos: atresia intestinal, volvo intestinal e fissura congênita na parede abdominal.

O tratamento cirúrgico para a SIC ou a falência funcional do intestino pode ser o TI ou o alongamento intestinal. As cirurgias de alongamento intestinal apresentam resultados conflitantes e existem poucas técnicas descritas⁽¹⁰⁻¹²⁾. Por outro lado, resultados a curto e médio prazo do TMV, com o uso em bloco do fígado, estômago, duodeno, pâncreas, intestino delgado e cólon direito⁽¹³⁾, têm apresentado melhora significativa nos últimos 10 anos⁽¹⁴⁾.

OBJETIVO

Tendo em vista o crescente investimento em pesquisa e desenvolvimento do TMV, este estudo visou descrever

o aperfeiçoamento e a capacitação técnica dessa modalidade cirúrgica, ainda inédita no Brasil.

MÉTODOS

Foram realizados quatro procedimentos experimentais em porcos, todos feitos pela mesma equipe, no mesmo local e sob as mesmas condições.

Pré-operatório

Os animais, da raça *Large White*, ficaram de jejum hídrico e sólido por 12 horas. Foi aplicada a medicação pré-anestésica (MPA) intramuscular profunda e, após 10 minutos, foram lavados e pesados antes de serem encaminhado para o centro cirúrgico.

O quadro 1 descreve as medicações e parâmetros da anestesia do suíno.

Quadro 1. Medicações e parâmetros da anestesia do suíno

MPA (IM)	Acepromazina 1 %_dose: 1 mg/Kg Midazolam__ dose: 0,2 mg/kg
Anestésico E.V	Etomidato 2mg/Kg
Intubação	Sonda endo traqueal 6,5
Isoflurane	0,5 a 1 %
Volume corrente	10 ml/Kg/h
Frequência corrente	16 rpm

Os eletrodos e oxímetro foram colocados nos animais para sua monitorização durante todo o procedimento cirúrgico.

Técnica cirúrgica da cirurgia do animal doador do enxerto multivisceral

Foi realizada assepsia com PVPI degermante da pele do animal, seguida de posicionamento de campos cirúrgicos estéreis. Iniciou-se com uma incisão mediana xifo-púbica da pele, abertura do tecido subcutâneo, hemostasia e abertura da aponeurose para visualização da cavidade abdominal e inspeção dos órgãos.

Seguiu-se com a liberação dos ligamentos entre o mesentério e o mesocólon, dissecação da aorta infrarrenal, da veia cava, do esôfago abdominal e da aorta suprarrenal e identificação da artéria mesentérica superior (AMS) e do tronco celíaco.

Foi feita incisão fúrculo-xifoide, secção do esterno com serra de Gigli, hemostasia e foi colocado o afastador de Finochietto, podendo ser identificada a veia cava inferior e a aorta descendente torácica. O animal recebeu infusão de 3 mL de heparina. Houve a ligadura da aorta distal justa ilíaca, sua cateterização e seu clampamento, tendo início a perfusão.

O próximo passo foi a infusão de 1.000 mL de solução de preservação Custodiol® pelo cateter da aorta e, simultaneamente, a incisão da veia cava inferior junto ao átrio direito e colocação de gelo estéril e moído de soro fisiológico na cavidade abdominal. Realizou-se a aspiração do sangue e da solução.

Em seguida, foi feita a secção e a ligadura do esôfago a 2 cm do cárdia, a secção e ligadura do íleo a 40 cm da válvula ileocecal, esplenectomia com ligadura da artéria e veia junto ao hilo esplênico, e a retirada a frio do enxerto em bloco com o estômago, duodeno, pâncreas, fígado e intestino. Foi também retirada toda a aorta descendente até a emergência das renais.

Acondicionou-se o enxerto multivisceral com 1.000 mL da solução de preservação Custodiol® e suturou-se a pele com fio de nylon 2-0 com agulha curvatura de 3 cm.

Cirurgia de mesa

Diminuição do tamanho do enxerto intestinal com secção de 2,5 m do íleo. Enxerto reduzido para aproximadamente 3,5 m. Sutura da aorta distalmente a emergência do tronco celíaco/AMS com prolene 6-0, mantendo toda a aorta tóraco-abdominal proximal.

Técnica cirúrgica da cirurgia do animal receptor do enxerto multivisceral

Foi realizada assepsia com PVPI degermante da pele do animal, seguida de posicionamento de campos cirúrgicos estéreis. Iniciou-se com uma incisão mediana xifopúbica da pele, abertura do tecido subcutâneo, hemostasia e abertura da aponeurose e peritônio, além de visualização da cavidade abdominal e inspeção dos órgãos.

Seguiu-se com a liberação dos ligamentos entre o mesentério e o mesocólon, dissecação da aorta infrarrenal, AMS, veia mesentéria superior e ramos cólicos. A AMS foi cateterizada com uma sonda número 12 para monitorização invasiva da pressão arterial média (PAM). Em seguida foram ligadas e seccionadas as artérias do tronco celíaco e a própria AMS.

Foi feita secção do cólon distal e secção do estômago na altura do fundo gástrico. Realizou-se, então, a técnica clássica de clampeamento da cava infra e supra-hepática e retirada do fígado. Em seguida, retiraram-se todos os órgãos peritoneais da cavidade: fígado, estômago, duodeno, pâncreas, intestino delgado e cólon.

O enxerto foi trazido para o campo operatório (tempo de isquemia fria de 4 horas e 20 minutos). Realizaram-se, com fio de prolene 6-0 sutura contínua as seguintes anastomoses:

- veia cava supra-hepática do enxerto com a veia cava do receptor justa diafragmática, término-terminal (Figura 1);
- veia cava infra hepática do enxerto com a veia cava inferior (suprarrenal) do receptor, término-terminal (Figura 2);
- *patch* da aorta do enxerto com a aorta infrarrenal do receptor término-lateral (Figura 3).

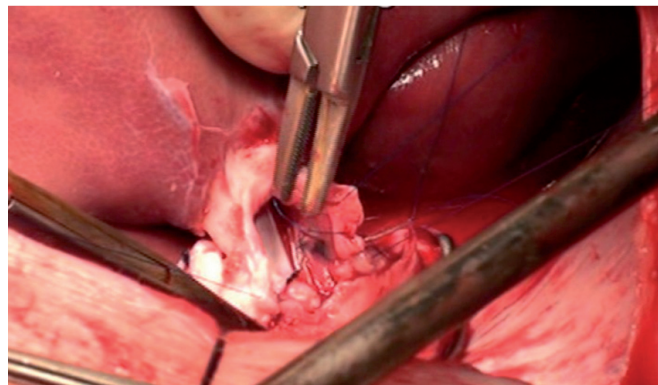


Figura 1. Anestomose da veia cava supra hepática

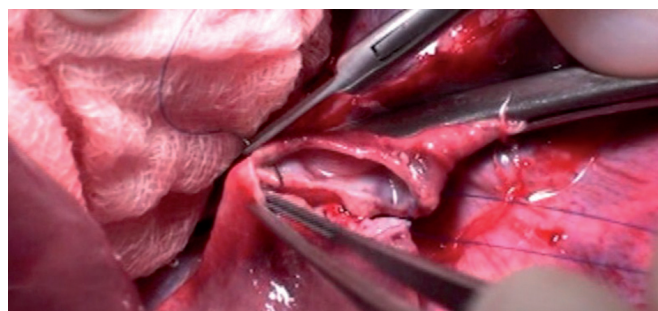


Figura 2. Anestomose da veia cava infra hepática

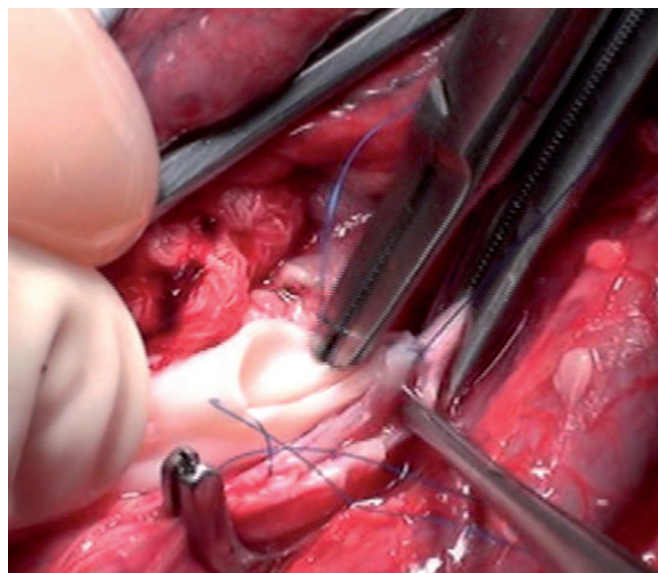


Figura 3. Patch da aorta do enxerto com a aorta infra-renal do receptor, anestomose término-lateral

Seguiu-se com o desclameamento da veia cava e, em seguida da aorta, com boa revascularização do enxerto. Foi feita a inspeção das anastomoses, observando um ponto de extravasamento da anastomose da aorta, reparado com ponto de prolene 6-0.

Suturou-se a aponeurose e o peritônio em plano único contínuo com prolene 2-0 e a pele com nylon 2-0.

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), sob o número CEP 534-08.

RESULTADOS

Foi possível a realização do transplante multivisceral nos quatro animais. O enxerto evoluiu com boa perfusão (Figura 4), porém os animais apresentaram taquicardia e sinais de hipotensão refratária (PAM invasiva = 45 mmHg). Após infusão de 2 L de Ringer Lactato morno e 10 mL de solução de bicarbonato 8,4% houve melhora da hipotensão e da perfusão do enxerto intestinal (PAM invasiva = 63 mmHg). Aplicaram-se 5 mL de Liquemine® intravenosa.

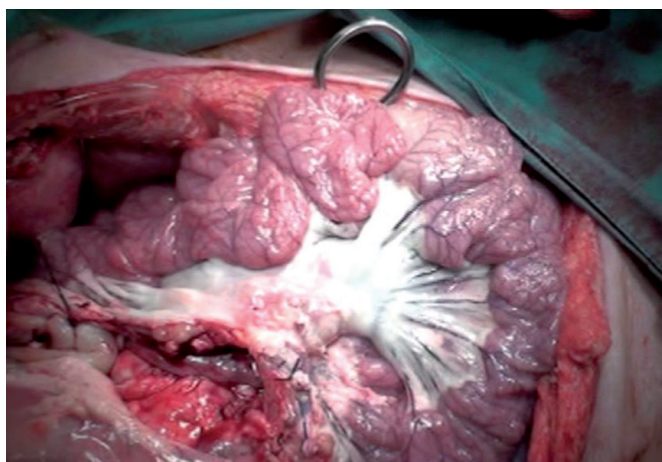


Figura 4. Reperfusão do enxerto multivisceral

Os animais apresentaram hipotensão com necessidade de drogas vasoativas em altas doses, sendo todos sacrificados com a retirada dessas drogas.

DISCUSSÃO

Nos quatro procedimentos realizados não houve sobrevivência do animal, sendo o óbito relacionado à síndrome de isquemia-reperfusão, resultando em hipotensão refratária, apesar do *flush* do enxerto. Dependendo da intensidade e do tempo de isquemia, quando o oxigênio é restabelecido aos tecidos, a lesão tecidual causada pela hipóxia pode ser agravada

(paradoxo do oxigênio)⁽¹⁵⁾. Os animais apresentaram hipotensão com necessidade de drogas vasoativas em altas doses, sendo todos sacrificados com a retirada dessas drogas.

A isquemia e reperfusão do intestino delgado provocam a ruptura da barreira mucosa, translocação bacteriana e ativação da resposta inflamatória⁽¹⁶⁾, bem como distúrbio nos equilíbrios ácido-base e hidroeletrólítico⁽¹⁷⁾. Outro fator que induz a lesão intestinal após a reperfusão é a geração de radicais livres de moléculas de oxigênio⁽¹⁸⁾, derivados de cadeias de transporte de elétrons da mitocôndria, xantina oxidase, metabolismo das células endoteliais, prostaglandinas e neutrófilos ativados⁽¹⁹⁾.

Alternativas para aumentar a sobrevivência do animal são: uso de mais de uma droga vasoativa, uso de um terceiro porco apenas para transfusão sanguínea, presença de uma equipe de anestesia na sala de cirurgia e redução do enxerto. O uso de drogas vasoativas para inibir a hipotensão refratária é amplamente discutido na literatura, principalmente em recém-nascidos e em situações de sepse^(20,21). Sua administração se baseia na propriedade vasoconstritiva dos fármacos, tendo como resultado aumento da resistência periférica e consequente aumento da PA. Outra forma de prevenir e reverter a hipotensão é pela reposição volêmica. Para isso, poderia ser utilizado um terceiro porco, apenas como doador para transfusão sanguínea.

A presença de uma equipe de anestesia durante a cirurgia trouxe grandes benefícios na estabilização da PA do animal. A dedicação exclusiva de uma equipe a monitorização hemodinâmica do porco é indispensável para minimizar os efeitos da síndrome de isquemia-reperfusão.

CONCLUSÃO

Foi possível a realização do transplante multivisceral em quatro animais. Hipotensão refratária ocorreu em todos os animais que evoluíram para o óbito. Alternativas para minimizar a síndrome de isquemia-reperfusão, como o uso de mais de uma droga vasoativa, uso de um terceiro porco apenas para transfusão sanguínea, presença de uma equipe de anestesia na sala de cirurgia e redução do enxerto, serão os próximos passos para possibilitar estudos experimentais.

REFERÊNCIAS

1. Koffeman GI, van Gemert WG, George EK, Veenendaal RA. Classification, epidemiology and etiology? Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2003;17(6):879-93.
2. Goulet O, Sauvat, F. Short bowel syndrome and intestinal transplantation in children. Cur Opin Nutr Metabolic Care. 2006;9(3):304-13.

3. Liefwaard G, Heineman E, Molenaar JC, Tibboel D. Prospective evaluation of the absorptive capacity of the bowel after major and minor resections in the neonates. *J Pediatr Surg.* 1995;30(3):388-91.
4. Sondheimer JM, Cadnapaphornchai M, Sontag M, Zerbe GO. Predicting the duration of dependence on PN after neonatal intestinal resection. *J Pediatr.* 1998;132(1):80-4.
5. Leonberg BL, Chuang E, Eicher P, Terhakovec AM, Leonard L, Stallings VA. Long-term growth and development in children after home PN. *J Pediatr.* 1998;132(3 Pt 1):461-6.
6. Festen S, Brevoord JC, Goldhoorn GA, Festen C, Hazebroek FW, van Heurn LW, et al. Excellent long-term outcome for survivors of apple peel atresia. *J Pediatr Surg.* 2002;37(1):61-5.
7. Howard L, Malone M. Current status of home parenteral nutrition in the United States. *Transplant Proc.* 1996;28(5):2691-5.
8. Goulet O, Lacaille F, Jan D, Ricour C. Intestinal transplantation: indication, results and strategy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2000;3(5):329-38.
9. Kaufman SS, Atkinson JB, Bianchi A, Goulet OJ, Grant D, Langnas AN, McDiarmid SV, Mittal N, Reyes J, Tzakis AG; American Society of Transplantation. Indication for pediatric intestinal transplantation: A position paper of the American Society of Transplantation. *Pediatr Transplant.* 2001;5(2):80-7.
10. Kim HB, Fauza D, Garza J, Oh JT, Nurko S, Jaksic T. Serial transverse enteroplasty (STEP): a novel bowel lengthening procedure. *J Pediatr Surg.* 2003;38(3):425-9.
11. Tannuri U. Serial transverse enteroplasty (STEP): a novel bowel lengthening procedure, and serial transverse enteroplasty for short bowel syndrome. *J Pediatr Surg.* 2003;38(12):1845.
12. Javid PJ, Kim HB, Duggan CP, Jaksic T. Serial transverse enteroplasty is associated with successful short-term outcomes in infants with short bowel syndrome. *J Pediatr Surg.* 2005;40(6):1019-23; discussion 1023-4.
13. Tzakis AG, Kato T, Levi DM, Defaria W, Selvaggi G, Wepler D, et al. 100 multivisceral transplants at a single center. *Ann Surg.* 2005;242(4):480-90; discussion 491-3.
14. Kato T, Tzakis AG, Selvaggi G, Gaynor JJ, David AI, Bussotti A, et al. Intestinal and multivisceral transplantation in children. *Ann Surg.* 2006;243(6):756-64; discussion 764-6.
15. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985;312(3):159-63.
16. João AS, Alencar SS, Medeiros AC, Diniz SO, Cardoso VN, Brandt CT. Translocation of 99mTc labelled bacteria after intestinal ischemia and reperfusion. *Acta Cir Bras.* 2004;19(4):328-33.
17. Turnage RH, Guice KS, Oldham KT. Endotoxemia and remote organ injury following intestinal reperfusion. *J Surg Res.* 1994;56(6):571-8.
18. Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras.* 2005;20(4):336-43.
19. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 1994;81(5):637-47.
20. Rodríguez-Núñez A, Oulego-Erroz I, Gil-Antón J, Pérez-Caballero C, López-Herce J, Gaboli M, et al. Continuous terlipressin infusion as rescue treatment in a case series of children with refractory septic shock. *Ann Pharmacother.* 2010;44(10):1545-53.
21. Filippi L, Poggi C, Serafini L, Fiorini P. Terlipressin as rescue treatment of refractory shock in a neonate. *Acta Paediatr.* 2008;97(4):500-2.