

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA

FABIO DE OLIVEIRA RIUTO

**Avaliação do efeito da ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido
no transplante pulmonar após isquemia fria em modelo animal**

São Paulo

2025



FABIO DE OLIVEIRA RIUTO

**Avaliação do efeito da ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido
no transplante pulmonar após isquemia fria em modelo animal**

Versão Original

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

Programa de Medicina (Cirurgia Torácica e
Cardiovascular)

Orientador: Prof. Dr. Marcos Naoyuki Samano

São Paulo

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Riuto, Fabio de Oliveira

Avaliação do efeito da ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido no transplante pulmonar após isquemia fria em modelo animal / Fabio de Oliveira Riuto; Marcos Naoyuki Samano, orientador. -- São Paulo, 2025.

Tese (Doutorado) -- Programa de Cirurgia Torácica e Cardiovascular. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2025.

1.Transplante de pulmão 2.Ventilação líquida
3.Fluorocarbonos 4.Ratos endogâmicos Lewis 5.Tratamentos com preservação do órgão 6.Lesão pulmonar aguda
7.Doação de órgãos I.Samano, Marcos Naoyuki, orient.
II.Título

USP/FM/DBD-182/25

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus e aos anjos da guarda pela proteção e pela saúde.

Aos meus filhos, Lucas e Marcelo Riuto, obrigado por existirem em minha vida. Amo vocês e peço desculpas pelas ausências.

À minha esposa, Viviane, pelo companheirismo e pela paciência até aqui.

À minha mãe, Elvira Gonçalves de Oliveira Riuto, pelo amor incondicional e apoio em todos os momentos.

À minha irmã, Patricia de Oliveira Riuto, pela prontidão diante de todas as nossas necessidades e pela parceria infalível.

Aos meus tios e tias, pelo exemplo de vida.

Aos meus amigos de trabalho - Aroldo Boigues, Flavio Moraes, Vitor Arce e Rafael Susin - pelo apoio em tudo.

Aos amigos que a vida me presenteou - Fernando Miguita, Danilo Milhorin, Giovani Scopel, Eduardo Ferreira, André Mori, Luiz Carlos Hernani, Gabriel Queiroz, Leopoldo Almeida, Paulo Alves, Eustácio Aquino, Fátima Frota, Priscilla Vieira, Alex Arenales e Gustavo Hindo - por estarem presentes até aqui.

Ao meu amigo do INCOR, Orival Freitas Filho, pela amizade ao longo dos anos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Naoyuki Samano, por acreditar no nosso projeto, pela parceria, amizade e confiança construídas ao longo dessa jornada.

Aos professores membros da banca, pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições nas avaliações deste trabalho.

Às amigas Natalia Nepomuceno e Liliane Ruiz, por tudo. Nestes 10 anos de LIM61, por todo o aprendizado, toda a paciência, toda a resiliência, toda a resistência e todo o amor ao propósito de vocês foram inspiração constante.

À Karina Andrighetti, ao Aristides Correia, à Tatiana Machado e ao Ricard Barbosa da Silva, por todo o apoio nestes anos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho
- meu muito obrigado!

“E que a minha loucura seja perdoada
Porque metade de mim é amor
E a outra metade... também.”
(Oswaldo Montenegro)

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP*; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Maria Claudia Pestana; Maria Cristina Cavarette Dziabas; Eliana Maria Garcia; Maria Fatima dos Santos, Maria Marta Nascimento; Suely Campos Cardoso. 3a ed. ed. amp. mod. São Paulo: SIBI/USP. 2016. (Caderno de estudos).

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

RESUMO

Riuto FO. Avaliação do efeito da ventilação líquida parcial com Perfluorooctil-bromido no transplante pulmonar após isquemia fria em modelo animal [tese]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2025.

A escassez de enxertos pulmonares viáveis representa um dos principais entraves à expansão do transplante pulmonar, especialmente diante da elevada taxa de descarte de órgãos decorrente da vulnerabilidade do parênquima pulmonar a lesões inflamatórias e oxidativas. Nesse cenário, a ventilação líquida parcial (VLP) com perfluorocarbonos (PFCs) tem se destacado como uma estratégia promissora para atenuar os efeitos deletérios da isquemia e reperfusão. Inicialmente desenvolvida no contexto experimental, a VLP teve suas primeiras aplicações clínicas na década de 1990, em pacientes com síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), visando à melhora da oxigenação e à redução da lesão induzida pela ventilação mecânica convencional. Dentre os PFCs, o perfluorooctil-bromido (PFB) apresenta propriedades físico-químicas favoráveis, incluindo elevada solubilidade de gases, baixa tensão superficial, efeito antioxidante e capacidade de estabilizar a interface ar-líquido nos alvéolos. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da VLP com PFB na preservação pulmonar em modelo experimental de transplante pulmonar unilateral após isquemia fria. Trinta e dois ratos Lewis foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais (Controle e PFB), compostos por doadores e receptores submetidos à ventilação mecânica convencional ou associada à instilação traqueal de PFB (7 mL/kg). Após duas horas de ventilação, os pulmões foram extraídos, preservados por seis horas em isquemia fria e transplantados para receptores homólogos, seguidos de duas horas de reperfusão. Foram avaliados parâmetros hemodinâmicos, gasométricos, mecânicos, inflamatórios, oxidativos e histológicos. Os resultados demonstraram que o Grupo-PFB apresentou melhora significativa da mecânica respiratória após o transplante, com redução da resistência (Rrs) e aumento da complacência (Crs) em comparação ao Grupo-Controle. A análise intragrupo demonstrou uma redução significativa da PaO₂ após o transplante em ambos os grupos, embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos na comparação intergrupo. Em relação aos marcadores inflamatórios e oxidativos, observou-se menor expressão de IL-6 e MDA nos receptores do Grupo-PFB, além de maior atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), sugerindo modulação favorável do estresse oxidativo. Não houve piora dos demais marcadores inflamatórios avaliados (IL-1 β , TNF- α , IL-10), com exceção de um discreto aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) no Grupo-PFB, possivelmente relacionado à própria fisiologia da reperfusão. A avaliação da relação peso úmido/peso seco indicou menor formação de edema pulmonar nos enxertos tratados com PFB, corroborando os achados histológicos de preservação da arquitetura alveolar. Conclui-se que a ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido promoveu melhora funcional, estrutural e bioquímica dos enxertos pulmonares após isquemia fria, indicando seu potencial como adjuvante na preservação pulmonar e na ampliação do pool de doadores para transplante.

Palavras-chave: Transplante de pulmão. Ventilação líquida. Fluorocarbonos. Ratos endogâmicos Lewis. Tratamentos com preservação do órgão. Lesão pulmonar aguda. Doação de órgãos.

ABSTRACT

Riuto FO. Evaluation of the effect of partial liquid ventilation with Perfluorooctyl-bromide in lung transplantation after cold ischemia in an animal model [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2025.

The shortage of viable lung grafts remains a major barrier to the expansion of lung transplantation, particularly due to the high discard rate of organs caused by the pulmonary parenchyma's susceptibility to inflammatory and oxidative injury. In this context, partial liquid ventilation (PLV) with perfluorocarbons (PFCs) has emerged as a promising strategy to mitigate ischemia-reperfusion injury. Initially developed in experimental settings, PLV was first clinically applied in the 1990s in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS), aiming to improve oxygenation and reduce ventilator-induced lung injury. Among PFCs, perfluorooctyl bromide (PFB) exhibits favorable physicochemical properties, including high gas solubility, low surface tension, antioxidant effects, and the ability to stabilize the air-liquid interface in the alveoli. This study aimed to evaluate the effects of PLV with PFB on lung preservation in a rat model of unilateral lung transplantation following cold ischemia. Thirty-two Lewis rats were randomly assigned to Control or PFB groups, consisting of donors and recipients undergoing either conventional mechanical ventilation or tracheal instillation of PFB (7 mL/kg). Following two hours of ventilation, the lungs were harvested, preserved under cold ischemia for six hours, and transplanted into syngeneic recipients, followed by two hours of reperfusion. Hemodynamic, gasometric, mechanical, inflammatory, oxidative, and histological parameters were analyzed. Results showed that PFB-treated lungs exhibited significantly improved respiratory mechanics after transplantation, with decreased airway resistance (Rrs) and increased compliance (Crs) compared to controls. Intragroup analysis demonstrated a significant reduction in PaO₂ after transplantation in both groups, although no statistically significant difference was observed between groups in the intergroup comparison. Regarding inflammatory and oxidative markers, lower levels of IL-6 and malondialdehyde (MDA), along with higher superoxide dismutase (SOD) activity, were observed in the PFB group, suggesting a favorable modulation of oxidative stress. No worsening was observed in other inflammatory markers (IL-1 β , TNF- α , IL-10), except for a mild increase in reactive oxygen species (ROS), possibly related to physiological aspects of reperfusion. The wet-to-dry weight ratio indicated reduced pulmonary edema in PFB-treated grafts, corroborating histological findings of preserved alveolar architecture. In conclusion, partial liquid ventilation with perfluorooctyl bromide improved functional, structural, and biochemical aspects of lung grafts following cold ischemia, highlighting its potential as an adjunct strategy for graft preservation and expansion of the lung donor pool.

Keywords: Lung transplantation. Liquid ventilation. Perfluorocarbons. Inbred Lewis rats. Organ preservation strategies. Acute lung injury. Organ donation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Volumes pulmonares.....	23
Figura 2 -	Desenho experimental do projeto	35
Figura 3 -	Procedimentos cirúrgicos	38
Figura 4 -	Relação das análises dos fragmentos pulmonares do rato doador	40
Figura 5 -	Relação das análises dos fragmentos pulmonares do rato receptor	43
Figura 6 -	Momentos das análises	43
Figura 7 -	Comportamento hemodinâmico durante o experimento	47
Figura 8 -	Pressão de oxigênio nas gasometrias arteriais	48
Figura 9 -	Resistência do Sistema Respiratório (Rrs) durante o experimento.....	49
Figura 10 -	Complacência do Sistema Respiratório (Cr _s) durante o experimento	50
Figura 11 -	Gráficos com intervalos de IL6.....	51
Figura 12 -	Gráficos com intervalos de IL1 β	52
Figura 13 -	Gráficos com intervalos de IL-10	53
Figura 14 -	Gráficos com intervalos de TNF.....	54
Figura 15 -	Gráficos com intervalos de MDA	55
Figura 16 -	Gráficos com intervalos de EROS	56
Figura 17 -	Gráficos com intervalos de Catalase	57
Figura 18 -	Gráficos com os intervalos de SOD.....	58
Figura 19 -	Gráficos com os intervalos de área de edema alveolar	59
Figura 20 -	Gráficos com os intervalos da área de neutrófilos	60
Figura 21 -	Relação peso úmido/peso seco.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Propriedade dos Perfluorocarbonos (PFCs).....	22
Tabela 2 -	Características dos animais incluídos.....	46
Tabela 3 -	Leucometria iniciais e finais.....	46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
CRF	Capacidade Residual Funcional
Crs	Complacência do sistema respiratório
DP	Desvio padrão
DPE	Disfunção Primária do Enxerto
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EVLV	Ex vivo lung perfusion (Perfusão pulmonar ex vivo)
FiO ₂	Fração inspirada de oxigênio
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IL-10	Interleucina 10
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IQ	Intervalo interquartil
ISHLT	<i>International Society for Heart and Lung Transplantation</i>
LAS	<i>Lung Allocation Score</i>
LIM 61	Laboratório de pesquisa em cirurgia torácica
LIR	Lesão por Isquemia-Reperfusão
MDA	Malondialdeído
PAM	Pressão arterial média
PaO ₂	Pressão parcial de oxigênio no sangue arterial
pCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial
PEEP	<i>Positive End-Expiratory Pressure (Pressão Expiratória Positiva)</i>
PFB	Perfluorooctil-bromido (Perflubron®)
PFC	Perfluorocarbono
PMSF	Fenilmetilsulfonil fluoreto (protease inhibitor usado em ensaios bioquímicos)
RIPA	<i>Radioimmunoprecipitation Assay</i> (Buffer de lise de proteína)
Rrs	Resistência do sistema respiratório

SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
vs.	Versus (contra)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcento
<	Menor que
=	Igual
>	Maior que
±	Mais ou menos
→	Indica direção ou consequência
®	Produto registrado
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
G	Gauge
H	Hora
mL	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercúrio (pressão)
nM	Nanômetro
°C	Graus centígrados
Δ	Variação ou diferença

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1	VENTILAÇÃO LÍQUIDA PARCIAL.....	20
2.1.1	Histórico da ventilação líquida e o papel dos Perfluorocarbonos (PFCs)	20
2.1.2	Propriedades biofísicas e fisiológicas dos Perfluorocarbonos	21
2.1.3	Aplicação da ventilação líquida parcial com PFB	23
2.1.4	Impactos da ventilação líquida parcial em modelos de doença pulmonar	23
2.1.5	Volatilidade e estratégias de administração do PFB	24
2.1.6	PFB como carreador de substâncias e células	24
2.1.7	Desafios e limitações da ventilação líquida parcial	24
2.2	TRANSPLANTE PULMONAR.....	25
2.2.1	Definição e histórico	25
2.2.2	Princípios para indicação ao transplante pulmonar	26
2.2.3	Dimensionamento dos transplantes pulmonares	26
2.2.4	Critérios para doação de pulmão	27
2.2.5	Estratégias para aumento do pool de pulmões para transplante	27
2.2.5.1	Ampliação dos critérios de seleção de doadores.....	27
2.2.5.2	Perfusão pulmonar ex vivo (EVLP)	28
2.2.5.3	Doação após parada circulatória (DCD).....	28
2.2.5.4	Desenvolvimento de biomarcadores para avaliação da viabilidade pulmonar	29
2.3	DISFUNÇÃO PRIMÁRIA DO ENXERTO (DPE).....	29
2.3.1	Lesão por isquemia-reperfusão na DPE	29
2.3.2	Mecanismos de lesão por isquemia-reperfusão (LIR)	30
2.3.3	Fase de reperfusão e resposta inflamatória	30
3	OBJETIVOS	32
3.1	OBJETIVO GERAL.....	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4	MÉTODOS	34
4.1	DESENHO EXPERIMENTAL	34
4.2	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	35
4.2.1	Preparo do animal	35

4.2.2	Administração PFC via traqueal (Grupo PFB).....	35
4.2.3	Ventilação	36
4.2.4	Perfusão e extração pulmonar	36
4.2.5	Transplante.....	37
4.2.6	Reperfusão no animal receptor.....	38
4.2.7	Analgesia dos animais	38
4.2.8	Descarte/eutanásia.....	39
4.3	ANÁLISES NO DOADOR	39
4.3.1	Gasometria, leucometria e monitorização hemodinâmica.....	39
4.3.2	Avaliação mecânica ventilatória	39
4.3.3	Preparo do pulmão direito do doador para análises.....	39
4.3.4	Anatomopatológico.....	40
4.3.5	Peso úmido/peso seco.....	41
4.3.6	Dosagem de citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10	41
4.3.7	Marcadores de estresse oxidativo	42
4.4	ANÁLISES NO RECEPTOR	42
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5	RESULTADOS	46
5.1	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS.....	46
5.2	COMPORTAMENTO HEMODINÂMICO.....	47
5.3	PARÂMETROS GASOMÉTRICOS	47
5.3.1	pO ₂ arterial.....	47
5.4	MECÂNICA PULMONAR.....	48
5.4.1	Resistência do Sistema Respiratório (Rrs)	48
5.4.2	Complacência do Sistema Respiratório (Crs)	49
5.5	CITOCINAS E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO	50
5.5.1	IL-6	50
5.5.2	IL-1 β	51
5.5.3	IL-10.....	52
5.5.4	TNF- α	53
5.5.5	Malondialdeído (MDA)	54
5.5.6	Espécies Reativas de Oxigênio (EROs).....	55
5.5.7	Catalase (CAT).....	56
5.5.8	Superóxido dismutase	57

5.6	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	58
5.6.1	Edema alveolar	58
5.6.2	Área de neutrófilos	59
5.7	RELAÇÃO PESO ÚMIDO/PESO SECO.....	60
6	DISCUSSÃO.....	63
6.1	DOADOR VS. RECEPTOR.....	63
6.2	CONTROLE VS. PFB.....	65
7	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	70
8	CONCLUSÕES	73
	REFERÊNCIAS.....	75
	ANEXOS	83
	ANEXO A - PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA AO LONGO DO PERÍODO DE AVALIAÇÃO	83
	ANEXO B - CONTRASTES MOMENTO A MOMENTO - DOADOR	84
	ANEXO C - CONTRASTES MOMENTO A MOMENTO - RECEPTOR.....	85
	ANEXO D - PARÂMETROS DE GASOMETRIA ARTERIAL E VENOSA.....	86
	ANEXO E - PARÂMETROS DE MECÂNICA PULMONAR	87

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O transplante pulmonar é uma alternativa terapêutica eficaz para pacientes com doenças pulmonares graves, proporcionando melhora na sobrevida e na qualidade de vida dos receptores¹. Com os avanços tecnológicos, o aprimoramento das técnicas cirúrgicas e a evolução dos métodos de preservação, o número de transplantes pulmonares aumentou significativamente, atingindo seu ápice em 2019, com procedimentos realizados em quase 250 centros ao redor do mundo². No Brasil, dados do Registro Brasileiro de Transplantes indicam que, até setembro de 2024, foram realizados 66 transplantes pulmonares, enquanto a lista de espera permanece alta, com 190 pacientes adultos e 11 pediátricos aguardando um órgão compatível.

A baixa taxa de captação de órgãos sólidos representa um dos principais desafios enfrentados pelas equipes transplantadoras, sendo especialmente crítica no transplante pulmonar devido à fragilidade desse órgão e sua susceptibilidade a complicações no manejo do doador³⁻⁵. A seleção dos doadores é baseada em critérios clínicos rigorosos, incluindo idade, presença de comorbidades, tempo de intubação orotraqueal, achados radiográficos e parâmetros gasométricos^{6,7}. Para ampliar o número de doadores elegíveis, diversas estratégias têm sido implementadas, como o uso de pulmões recondicionados, a doação após parada circulatória e a flexibilização dos critérios de aceitação, permitindo a utilização de doadores não ideais^{6,8-11}.

Nos últimos anos, avanços na preservação pulmonar e no recondicionamento *ex vivo* contribuíram para melhorar os resultados dos transplantes. A técnica de perfusão pulmonar *ex vivo* (*ex vivo lung perfusion* – EVLP) tem sido amplamente estudada e aplicada como uma estratégia para avaliar e recuperar pulmões inicialmente considerados marginais para transplante, aumentando o número de órgãos disponíveis. Além disso, aprimoramentos nas soluções de preservação pulmonar, como a utilização da solução de Perfadex® associada ao uso de esteroides e agentes antioxidantes, demonstraram potencial para minimizar os danos causados pela isquemia fria e pela reperfusão.

Paralelamente, investigações sobre novas abordagens para reduzir a lesão de isquemia-reperfusão levaram ao estudo dos perfluorocarbonos (PFCs), líquidos biologicamente inertes com alta capacidade de dissolução de gases. Originalmente utilizados na ventilação líquida total em neonatologia e no suporte ventilatório experimental, os PFCs despertaram interesse na medicina de transplantes devido às suas propriedades protetoras contra lesões oxidativas e inflamatórias. Estudos experimentais indicaram que a instilação de PFCs nos pulmões durante

a preservação pode ajudar a estabilizar a membrana alveolar e reduzir a inflamação, minimizando os danos associados ao processo de isquemia-reperfusão.

Com base nesses achados, a ventilação líquida parcial (VLP) com PFCs surgiu como uma abordagem inovadora para otimizar a preservação pulmonar. Diferente da ventilação líquida total, a VLP utiliza uma quantidade parcial de PFCs associada à ventilação mecânica convencional, permitindo a formação de uma interface líquido-ar nos alvéolos que melhora a troca gasosa, reduz a atelectasia e diminui a resposta inflamatória. Entre os diversos tipos de PFCs, o perfluorooctil-bromido (PFB) destaca-se por suas propriedades físico-químicas favoráveis, incluindo alta solubilidade de oxigênio e dióxido de carbono, efeitos antioxidantes e capacidade de estabilização da estrutura alveolar.

Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo investigar os efeitos da VLP com PFB na preservação pulmonar em um modelo experimental de isquemia fria em pequenos animais. Ao avaliar seu impacto na redução do dano por isquemia-reperfusão e na viabilidade do enxerto, este projeto busca gerar evidências para o desenvolvimento de protocolos mais eficazes na prática clínica. Além disso, os achados poderão contribuir para a ampliação do uso de pulmões de doadores com critérios estendidos, aumentando a disponibilidade de órgãos viáveis e reduzindo a mortalidade na lista de espera. Dessa forma, a pesquisa reforça o compromisso com a inovação científica e apresenta um potencial impacto positivo na saúde pública.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 VENTILAÇÃO LÍQUIDA PARCIAL

2.1.1 Histórico da ventilação líquida e o papel dos Perfluorocarbonos (PFCs)

As primeiras aplicações da ventilação líquida parcial (VLP) foram exploradas em diferentes contextos, desde estudos experimentais até potenciais usos clínicos. Historicamente, a ventilação líquida começou a ser estudada no início do século XX, mas a aplicação da ventilação líquida com perfluorocarbonos (PFCs) teve seu marco inicial com os trabalhos de Leland C. Clark Jr. e Franck Gollan, na década de 1960^{12,13}.

Principais primeiras aplicações da VLP:

1. Pesquisa militar e exposição a gases tóxicos:

No período pós-Primeira Guerra Mundial, houve interesse em utilizar líquidos instilados nos pulmões para tratar soldados expostos a gases tóxicos, como cloro e gás mostarda. Foram testadas soluções salinas para minimizar os danos pulmonares causados por inalação de substâncias irritantes;

2. Substituto do sangue e transporte de oxigênio:

Durante a Segunda Guerra Mundial, os militares buscaram alternativas para a transfusão sanguínea em ambientes nos quais não havia disponibilidade de sangue humano. Os perfluorocarbonos (PFCs) foram identificados como potenciais transportadores de oxigênio, o que levou a estudos sobre sua aplicação em pacientes com hipóxia severa;

3. Ventilação de recém-nascidos prematuros:

Um dos primeiros usos experimentais da ventilação líquida foi em bebês prematuros com síndrome do desconforto respiratório neonatal (SDRN), uma condição caracterizada pela deficiência de surfactante pulmonar. A instilação de PFCs ajudava a manter os alvéolos abertos e melhorar a oxigenação;

4. Exploração em ambientes de alta pressão - mergulhadores e astronautas:

Nos anos 1960 e 1970, foi explorada a possibilidade de utilizar ventilação líquida para mergulhadores de grande profundidade, reduzindo os efeitos da narcose pelo nitrogênio e da toxicidade do oxigênio em altas pressões. Além disso, a NASA

estudou o conceito de uma cápsula líquida para proteger astronautas contra forças G extremas;

5. Tratamento da Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA):

Nos anos 1980 e 1990, a VLP foi testada como alternativa para tratar pacientes com SDRA, uma condição grave em que ocorre inflamação e colapso alveolar, resultando em insuficiência respiratória. Os PFCs ajudavam a melhorar a oxigenação e a reduzir os danos pulmonares causados pela ventilação mecânica convencional;

6. Preservação pulmonar e transplantes:

Estudos mais recentes sugerem que a ventilação líquida parcial pode ser uma estratégia útil para preservação de pulmões transplantados e para condicionamento pulmonar *ex vivo*, reduzindo o impacto da isquemia e melhorando a função do enxerto após o transplante.

Essas primeiras aplicações mostraram o potencial da ventilação líquida parcial em diversas áreas, desde a medicina neonatal e respiratória até a biomedicina aeroespacial e de mergulho. No entanto, desafios técnicos e limitações na transição para o uso clínico ainda limitam sua aplicação em larga escala.

2.1.2 Propriedades biofísicas e fisiológicas dos Perfluorocarbonos

Os PFCs são líquidos inertes, incolores, de alta densidade, baixa tensão superficial e insolubilidade em água, com grande capacidade de difusão de gases respiratórios. Atualmente, mais de 50 tipos de PFCs foram desenvolvidos para uso experimental e clínico. Além de conferirem proteção ao surfactante e à membrana alveolar, também atuam como carreadores de resíduos no interior dos alvéolos. Estudos demonstram que PFCs podem permanecer nos pulmões por até cinco anos sem efeitos deletérios.

Entre os diferentes tipos de PFCs, destacam-se as moléculas lineares, como o Perfluorooctil-bromido (PFB), que possuem melhor solubilidade para oxigênio em comparação com moléculas cíclicas, como a Perfluorodecalina. O PFB apresenta características favoráveis para a ventilação líquida, incluindo maior densidade que os fluidos corpóreos, permitindo que ele desça para regiões pulmonares dependentes e funcione como um PEEP líquido. Além disso, promove melhor distribuição do fluxo sanguíneo pulmonar, melhora a relação ventilação/perfusão e otimiza a complacência pulmonar ao compensar a deficiência de surfactantes¹⁴⁻¹⁶.

O PFB se destaca entre os perfluorocarbonos devido às suas propriedades físico-químicas que favorecem a ventilação líquida parcial (VLP). Sua alta solubilidade para oxigênio, decorrente de sua estrutura molecular linear, permite uma melhor oxigenação em comparação com moléculas cíclicas, como a Perfluorodecalina. Além disso, sua alta densidade faz com que ele desça para as regiões pulmonares dependentes, nas quais funciona como um “PEEP líquido”, prevenindo o colapso alveolar e melhorando a relação ventilação/perfusão. Outro fator importante é sua baixa tensão superficial, que reduz a interface ar-líquido nos alvéolos pulmonares, otimizando a complacência pulmonar e compensando a deficiência de surfactantes. Sua pressão de vapor equilibrada impede tanto sua evaporação rápida quanto sua permanência prolongada no pulmão, o que reduz a necessidade de reposições frequentes durante a ventilação líquida. O PFB também promove uma redistribuição do fluxo sanguíneo pulmonar, direcionando-o para áreas mais bem ventiladas, o que aumenta a eficiência das trocas gasosas. Além disso, apresenta efeitos protetores contra o estresse oxidativo e a inflamação, reduzindo danos pulmonares em modelos experimentais, e sendo uma alternativa promissora para transplantes pulmonares e lesões de isquemia/reperfusão. Outro diferencial do PFB é seu potencial terapêutico ampliado, podendo ser utilizado como veículo para a administração de medicamentos, anestésicos e até células-tronco, abrindo novas perspectivas para o tratamento de doenças pulmonares. Com essas características, o PFB se mostra a opção mais eficaz para a ventilação líquida parcial, proporcionando melhor recrutamento alveolar, otimização da mecânica pulmonar e preservação de enxertos pulmonares em transplantes (Tabela 1).

Tabela 1 - Propriedade dos Perfluorocarbonos (PFCs)

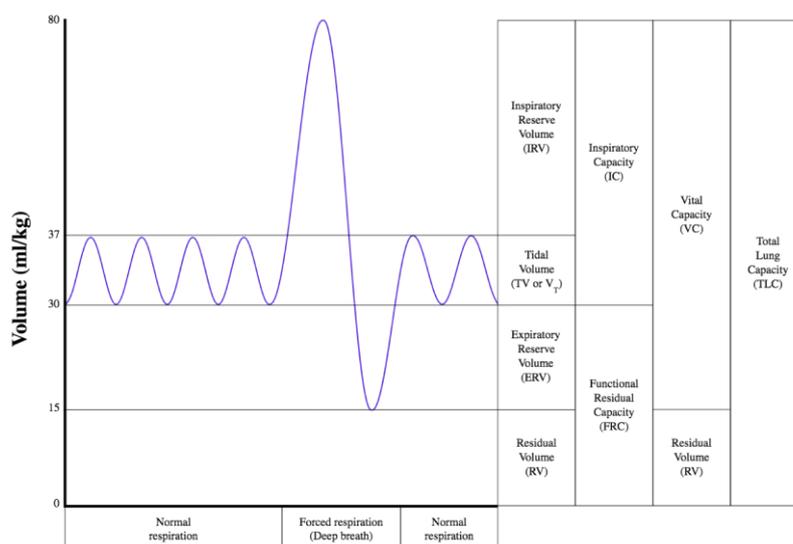
Tipo de PFC	Estrutura Molecular	Solubilidade de Oxigênio	Densidade	Função como PEEP Líquido	Efeito na Ventilação	Persistência no Pulmão
PFB	Linear	Maior	Maior que os fluidos corpóreos	Sim	Melhora a distribuição do fluxo sanguíneo, otimiza a relação ventilação/perfusão e a complacência pulmonar	Até 5 anos sem efeitos deletérios
Perfluorodecalina	Cíclica	Menor	Menor que o PFB	Menos eficaz	Menor eficácia na distribuição e solubilidade de gases	Até 5 anos sem efeitos deletérios

Fonte: Elaboração própria.

2.1.3 Aplicação da ventilação líquida parcial com PFB

A ventilação líquida total, na qual os pulmões são completamente preenchidos com líquido, foi testada em diversos experimentos, mas obteve os melhores resultados na modalidade de ventilação líquida parcial (VLP). Nessa abordagem, o PFB é administrado em volume próximo à Capacidade Residual Funcional (CRF), enquanto a ventilação mecânica é mantida convencionalmente (Figura 1).

Figura 1 - Volumes pulmonares



Fonte: Yoshida et al. (2005).

Em modelos experimentais, a VLP demonstrou efeitos benéficos, como a redução da concentração de mediadores pró-inflamatórios durante o período isquêmico e a melhora da preservação dos enxertos pulmonares. Estudos em transplantes pulmonares experimentais mostraram que a VLP com PFB reduz a disfunção aguda do enxerto, e melhora a mecânica ventilatória e as trocas gasosas em comparação com a ventilação convencional^{14,19-21}.

2.1.4 Impactos da ventilação líquida parcial em modelos de doença pulmonar

Nos últimos 60 anos, a VLP foi amplamente estudada em diferentes modelos, incluindo pulmões normais, prematuros e lesados. Em pulmões normais, observou-se uma piora da relação ventilação/perfusão, reduzindo a eficiência das trocas gasosas. No entanto, em modelos de lesão pulmonar aguda e em bebês prematuros, a VLP melhorou a complacência pulmonar e reduziu o shunt direita-esquerda.

Apesar dos benefícios observados em estudos experimentais, os resultados clínicos não foram tão promissores. Ricard et al. relataram que doses de 7 a 13 ml/kg de PFB instiladas na traqueia reduziram as lesões microvasculares associadas à ventilação mecânica em pulmões injuriados, enquanto doses próximas à CRF (20 ml/kg) não demonstraram benefícios adicionais²⁰.

2.1.5 Volatilidade e estratégias de administração do PFB

O PFB é um líquido volátil, e diferentes estratégias de reposição foram investigadas para otimizar sua eficácia. Estudos demonstraram que o PFB pode manter a oxigenação e a integridade pulmonar por até quatro horas sem necessidade de reposição. Além disso, estratégias de administração influenciam diretamente a distribuição do PFC pelo parênquima pulmonar, sendo a instilação traqueal lateral uma das abordagens testadas^{21,22}.

A nebulização/aerossolização do PFC também foi explorada como alternativa para melhorar sua distribuição pulmonar. Estudos com aerossolização mostraram benefícios prolongados na troca gasosa e mecânica pulmonar em porcos depletados de surfactante, embora outros estudos tenham questionado a eficácia da distribuição do PFC nessa modalidade^{22,23}.

2.1.6 PFB como carreador de substâncias e células

Além de seu papel na ventilação líquida, o PFB pode atuar como veículo para a administração de antibióticos, anestésicos, substâncias vasoativas, imunossupressores e células-tronco diretamente no parênquima pulmonar. Estudos demonstram que a VLP com PFB tem potencial para melhorar a deposição alveolar dessas substâncias, tornando-se uma estratégia promissora para o tratamento de doenças pulmonares²².

2.1.7 Desafios e limitações da ventilação líquida parcial

Apesar dos avanços, a aplicação clínica da VLP com PFCs ainda é limitada devido ao seu alto custo e à ocorrência de complicações, como pneumotórax, disfunção cardiocirculatória, acidose metabólica, dificuldades na transição para a ventilação convencional e a necessidade de aspiração frequente para remoção de secreções.

Entretanto, os avanços tecnológicos no monitoramento pulmonar vêm contribuindo para a otimização da VLP. O estudo de Becerra et al. (2021) demonstrou que a ventilação líquida

associada ao condicionamento *ex vivo* reduziu a resposta inflamatória em modelos de lesão por isquemia e reperfusão, reforçando seu potencial terapêutico⁴⁴.

2.2 TRANSPLANTE PULMONAR

2.2.1 Definição e histórico

Nas últimas décadas, o transplante pulmonar consolidou-se como uma estratégia terapêutica reconhecida globalmente para o tratamento de pneumopatias avançadas. Indicado em casos nos quais abordagens menos invasivas não são eficazes, o procedimento tem como objetivo prolongar a expectativa e melhorar a qualidade de vida de pacientes com doenças pulmonares progressivas^{24,25}.

Os primeiros avanços na história do transplante pulmonar remontam a 1907, quando o cientista francês Alexis Carrel estabeleceu as bases metodológicas para o transplante de órgãos sólidos ao descrever técnicas inovadoras de anastomose vascular. Seus achados possibilitaram o progresso científico no campo dos enxertos pulmonares, incluindo sua experiência pioneira com transplante cardiopulmonar heterotópico em felinos, pesquisa que lhe rendeu o Prêmio Nobel em 1912^{26,27}.

Nas décadas seguintes, houve avanços significativos, apesar das limitações técnicas da época. Em 1947, o fisiologista soviético Vladimir Demikhov realizou um transplante experimental de coração e pulmão em cães, com uma sobrevida inicial de duas horas, abrindo caminho para novos experimentos no campo²⁸.

O primeiro transplante pulmonar em humanos ocorreu em 1963, sob a liderança de James Hardy, após extensos testes em animais. Apesar dos avanços técnicos, o paciente faleceu no 11º dia pós-operatório devido à insuficiência renal, revelando os desafios da imunossupressão da época^{29,30}. Somente em 1971, registrou-se o primeiro paciente a sobreviver por mais de 10 meses após o transplante pulmonar³¹.

Nos anos 1980, a introdução da ciclosporina melhorou significativamente a sobrevida dos transplantados. Em 1983, Joel Cooper e sua equipe em Toronto realizaram o primeiro transplante pulmonar unilateral da "era pós-ciclosporina", garantindo uma sobrevida de 6,5 anos ao paciente. Esse grupo tornou-se referência mundial, alcançando a marca de 3.000 transplantes pulmonares^{30,31}.

No Brasil, o primeiro transplante pulmonar foi realizado em 1989 pelo cirurgião José Camargo na Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. O paciente teve uma sobrevida de 10 anos, representando um marco histórico na América Latina³².

2.2.2 Princípios para indicação ao transplante pulmonar

Inicialmente, a alocação de órgãos baseava-se em critérios simples, como tempo em lista de espera e compatibilidade sanguínea. Contudo, a crescente demanda por transplantes pulmonares evidenciou as limitações desses métodos. Em 2005, foi implementado o Escore de Alocação de Pulmão (LAS, do Inglês, *Lung Allocation Score*), que prioriza pacientes com maior urgência e melhor prognóstico pós-transplante³³.

O LAS contribuiu para uma seleção mais equitativa dos candidatos e foi consolidado pelo Consenso de 2014 da Sociedade Internacional para o Transplante de Coração e Pulmão (ISHLT)⁵⁰. O transplante pulmonar é, geralmente, indicado para pacientes com doenças pulmonares crônicas em estágio avançado, risco elevado de morte em dois anos sem o procedimento e alta probabilidade de sobrevivência por, pelo menos, cinco anos após o transplante.

As principais indicações incluem: doença pulmonar obstrutiva crônica (33%), fibrose pulmonar (30%), fibrose cística (16%), retransplante (4%) e hipertensão arterial pulmonar idiopática (2,9%)⁴⁷. Recentemente, a pandemia de COVID-19 suscitou debates sobre a viabilidade do transplante pulmonar para pacientes com falência respiratória irreversível causada pelo vírus⁴⁵⁻⁴⁷.

2.2.3 Dimensionamento dos transplantes pulmonares

A ampliação dos critérios de elegibilidade para transplante pulmonar resultou no crescimento global dos procedimentos, ultrapassando 4.000 transplantes em 2015²⁴. No Brasil, porém, os números seguem abaixo das metas estabelecidas. Em setembro de 2024, 190 brasileiros adultos e 11 pediátricos aguardavam um transplante pulmonar⁴⁷. Os principais entraves incluem financiamento insuficiente e baixa taxa de pulmões viáveis para doação⁴⁷.

2.2.4 Critérios para doação de pulmão

Os critérios para seleção de doadores pulmonares ainda são baseados em diretrizes da década de 1980. Doadores ideais têm entre 20 e 45 anos, relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ superior a 350, histórico livre de tabagismo e tempo de isquemia inferior a quatro horas³³.

Dada a crescente demanda, a ampliação desses critérios tem permitido a utilização de órgãos antes considerados inviáveis, o que exige maior atenção às complicações sistêmicas e às condições do doador^{48,49}.

2.2.5 Estratégias para aumento do *pool* de pulmões para transplante

A escassez de órgãos para transplante pulmonar continua sendo um dos maiores desafios enfrentados pela medicina transplantadora. A taxa de aproveitamento de pulmões doados permanece baixa devido à alta susceptibilidade desse órgão a lesões inflamatórias e infecciosas. Para mitigar essa limitação e expandir a disponibilidade de pulmões viáveis, diversas estratégias têm sido exploradas nos últimos anos⁵⁰.

2.2.5.1 Ampliação dos critérios de seleção de doadores

A adoção de critérios menos restritivos para aceitação de pulmões de doadores tem sido uma estratégia fundamental para aumentar o número de enxertos disponíveis. Tradicionalmente, pulmões de doadores com histórico de tabagismo, idade avançada ou tempo prolongado de ventilação mecânica eram sistematicamente descartados. No entanto, estudos recentes demonstraram que, em determinados casos, esses órgãos podem ser utilizados com sucesso, desde que submetidos a avaliações rigorosas.

Dentre os critérios expandidos que vêm sendo aplicados, estão:

1. Idade acima de 55 anos, desde que a função pulmonar seja preservada;
2. Histórico de tabagismo (>20 maços-ano), com avaliação complementar por tomografia de tórax;
3. Tempo prolongado de ventilação mecânica (>72 horas), considerando parâmetros ventilatórios favoráveis;
4. Gasometria arterial com $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ entre 250 e 300, antes considerados inaceitáveis.

Essas abordagens permitem o aproveitamento de pulmões que, antes, seriam automaticamente descartados.

2.2.5.2 Perfusão pulmonar *ex vivo* (EVLP)

A técnica de perfusão pulmonar *ex vivo* (EVLP) revolucionou a preservação e o condicionamento de pulmões marginais, permitindo a avaliação e a recuperação funcional do enxerto antes do transplante. A EVLP consiste na circulação de um líquido perfusor aquecido e oxigenado por meio do pulmão isolado, sob ventilação controlada, permitindo a remoção de secreções, avaliação hemodinâmica e recuperação da função alveolar.

Estudos clínicos demonstram que pulmões inicialmente descartados podem ser recuperados e utilizados com segurança após passarem pela EVLP, reduzindo as taxas de disfunção primária do enxerto e melhorando a sobrevida dos receptores. Além disso, a técnica viabiliza a aplicação de estratégias terapêuticas como:

1. Administração de antibióticos e surfactantes para tratar infecções pulmonares;
2. Uso de antioxidantes para reduzir o estresse oxidativo;
3. Terapias celulares (ex.: células-tronco mesenquimais) para regeneração pulmonar.

2.2.5.3 Doação após parada circulatória (DCD)

A doação após parada circulatória (DCD) vem sendo cada vez mais explorada como alternativa para expandir o número de pulmões disponíveis. Diferentemente da doação após morte encefálica, a DCD envolve doadores que evoluem para parada cardiorrespiratória controlada ou não controlada.

Embora a DCD tenha sido inicialmente limitada por preocupações com a viabilidade do enxerto, estudos recentes mostram que pulmões de DCD apresentam sobrevida semelhante à de doadores em morte encefálica, desde que submetidos à EVLP e preservação otimizada. Países como Espanha, Reino Unido e Canadá já adotam essa estratégia de forma rotineira, aumentando significativamente o número de transplantes pulmonares realizados⁴⁹.

2.2.5.4 Desenvolvimento de biomarcadores para avaliação da viabilidade pulmonar

A busca por biomarcadores específicos que permitam prever a viabilidade do pulmão doado é uma área promissora na medicina de transplantes. Marcadores inflamatórios e oxidativos (ex.: IL-6, TNF- α , MDA, SOD e CAT) podem ser utilizados para estratificar o risco de disfunção primária do enxerto e otimizar a seleção de órgãos para transplante.

Além disso, avanços em inteligência artificial e aprendizado de máquina vêm sendo explorados para analisar padrões de tomografia de tórax e gasometria arterial, auxiliando na decisão sobre o uso de pulmões de doadores marginais.

2.3 DISFUNÇÃO PRIMÁRIA DO ENXERTO (DPE)

2.3.1 Lesão por isquemia-reperfusão na DPE

A disfunção primária do enxerto (DPE) é a principal complicação precoce após o transplante pulmonar, resultando de uma cascata complexa de eventos inflamatórios e oxidativos desencadeados pelo processo de isquemia-reperfusão. A morte encefálica e suas repercussões fisiopatológicas geram múltiplos impactos deletérios sobre o enxerto pulmonar. Além da causa específica do óbito, fatores como o tempo de ventilação mecânica invasiva e os métodos de preservação e armazenamento dos pulmões antes do transplante influenciam diretamente o desenvolvimento da DPE⁵²⁻⁵⁴.

A DPE é caracterizada por hipoxemia grave (razão PaO₂/FiO₂ reduzida) e infiltrados pulmonares bilaterais compatíveis com edema pulmonar não cardiogênico. Esses achados, típicos de uma lesão pulmonar aguda, surgem nas primeiras horas após a reperfusão do órgão transplantado e estão associados a elevadas taxas de morbimortalidade em receptores de transplante pulmonar^{34,58}.

De acordo com o Consenso de 2016 da Sociedade Internacional para o Transplante de Coração e Pulmão (ISHLT), a DPE é classificada em três graus de severidade, com avaliação em diferentes momentos (T0, T24, T48 e T72 horas) após a reperfusão, permitindo um acompanhamento dinâmico da progressão da lesão³³.

2.3.2 Mecanismos de lesão por isquemia-reperfusão (LIR)

Embora a DPE seja diagnosticada após a reperfusão, seus mecanismos fisiopatológicos têm início ainda durante o período de isquemia do enxerto. O insulto isquêmico leva à ativação de vias inflamatórias e oxidativas que constituem a base etiológica da DPE^{33,55}.

A interrupção do fluxo sanguíneo durante a captação e o armazenamento do enxerto resulta em hipóxia tecidual severa, agravada pela ausência de estímulos mecânicos nas paredes vasculares. Esse ambiente favorece a ativação de macrófagos alveolares e células endoteliais, promovendo a liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs)^{52,56}.

A hipóxia reduz a produção de ATP, levando ao fechamento de canais de potássio sensíveis ao ATP na membrana das células endoteliais. Isso resulta na despolarização da membrana e na ativação da NADPH oxidase, amplificando a produção de EROs. Além disso, a disfunção mitocondrial intensifica a liberação de íons cálcio e radicais livres, exacerbando a lesão celular^{53,56}.

Outro mecanismo relevante envolve a conversão da xantina desidrogenase em xantina oxidase, interrompendo a conversão de hipoxantina em ácido úrico e promovendo a formação de EROs adicionais no tecido pulmonar⁵².

2.3.3 Fase de reperfusão e resposta inflamatória

A reperfusão do enxerto isquêmico desencadeia um recrutamento maciço de neutrófilos para os pulmões transplantados, exacerbando a resposta inflamatória. Essas células liberam citocinas pró-inflamatórias, elastases e proteases, aumentando a permeabilidade vascular e comprometendo a integridade endotelial. Além disso, a ativação plaquetária e a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) elevam a resistência vascular pulmonar, resultando na formação de edema intersticial^{52,53}.

As consequências fisiopatológicas incluem hipoxemia progressiva, aumento do espaço morto ventilatório, disfunção na produção de surfactante e comprometimento da mecânica pulmonar. Esses fatores combinados resultam em piora da função pulmonar e prolongamento da recuperação pós-transplante⁵⁹.

A compreensão detalhada dos mecanismos envolvidos na DPE é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que minimizem sua ocorrência e gravidade, favorecendo melhores desfechos para os receptores de transplante pulmonar.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos da ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido (PFB) na preservação pulmonar em modelo experimental de transplante pulmonar unilateral em ratos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros hemodinâmicos, gasométricos e mecânicos pulmonares em pulmões submetidos à ventilação líquida parcial com PFB e isquemia fria;
- Quantificar os marcadores de estresse oxidativo e citocinas inflamatórias para compreender os mecanismos bioquímicos associados ao uso de PFB;
- Determinar os efeitos do PFB sobre a histoarquitetura pulmonar, incluindo alterações inflamatórias e estruturais, após a reperfusão do enxerto.

4 MÉTODOS

4 MÉTODOS

Os animais utilizados durante o experimento foram fornecidos pelo biotério da Universidade de Campinas, Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB). Os animais foram mantidos no biotério da Divisão de Experimentação do Instituto do Coração, em ambiente convencional, água e ração balanceada *ad libitum*. Todo protocolo experimental foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Cirurgia Torácica LIM 61, localizado na Divisão de Experimentação Animal do Instituto do Coração - HCFMUSP.

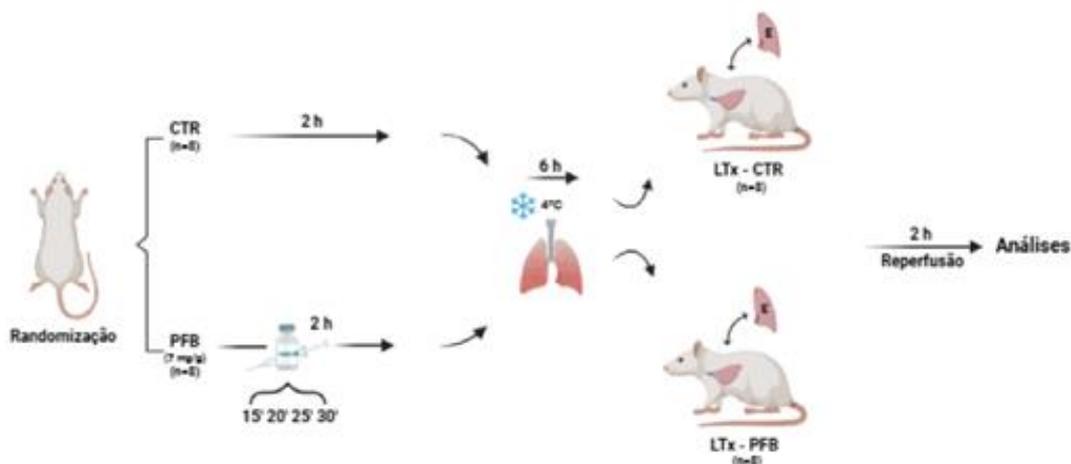
4.1 DESENHO EXPERIMENTAL

O protocolo foi baseado nos princípios éticos segundo as normas vigentes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) que regem sua utilização na pesquisa científica.

No presente estudo, foram utilizados 32 ratos isogênicos machos adultos da linhagem Lewis, com peso médio entre 300 e 400 gramas. Foram realizados 16 experimentos de captura, nos chamados animais doadores (8 no Grupo-Controle e 8 no Grupo-PFB) e 16 transplantes pulmonares nos animais receptores (8 em cada grupo) conforme ilustrado na Figura 2. A distribuição dos roedores nos grupos experimentais foi feita de maneira aleatória, por meio de sorteio.

Grupo-Controle: 8 animais doadores foram anestesiados e mantidos em ventilação mecânica convencional por 2h, seguido de extração do bloco cardiopulmonar; após um período de 6 horas de isquemia fria, 8 animais receptores foram submetidos à realização do transplante unilateral à esquerda com 2h de reperfusão.

Grupo-PFB: 8 animais doadores foram anestesiados e mantidos em ventilação mecânica convencional por 2h, tratados com PFB nos momentos 15, 20, 25 e 30 minutos, seguido de extração do bloco cardiopulmonar; após um período de 6 horas de isquemia fria, 8 animais receptores foram submetidos à realização do transplante unilateral à esquerda com 2h de reperfusão.

Figura 2 - Desenho experimental do projeto

Fonte: Elaboração própria com BioRender.com.

Nota: CTR, grupo controle; PFB, grupo perfluorooctil-bromido; E, pulmão esquerdo; LTx - CTR, transplante de pulmão do grupo controle; LTx - PFB, transplante de pulmão do grupo PFB.

4.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

4.2.1 Preparo do animal

Os animais foram anestesiados em câmara fechada com isoflurano a 5% e submetidos à intubação orotraqueal e ventilação mecânica por meio de ventilador para roedores (Harvard Apparatus, modelo 683), FiO_2 de 100%, volume corrente de 10 mL/kg e 60 ciclos por minuto. O suporte anestésico foi mantido com isoflurano a 2%.

Com os animais posicionados em decúbito dorsal em placas aquecedoras, para manter a temperatura constante, procedeu-se com traqueostomia para inserção de uma cânula rígida, a artéria e veia femoral direita foram canuladas, utilizando cateter confeccionados com perfusor infantil e dispositivo periférico intravenoso (24-gauge) preenchidos com solução salina heparinizada (500 IU/ml) e inseridos delicadamente com o auxílio de microscópio estereoscópico (Zeiss, modelo Stemi 508). O cateter da artéria femoral direita foi conectado a um monitor (Dixtal, DX2021, Brasil) para registro da pressão arterial média (PAM). A veia femoral foi utilizada para retirada de alíquotas de sangue durante todo o procedimento.

4.2.2 Administração PFC via traqueal (Grupo PFB)

Devido à alta densidade do PFB, que dificultava sua nebulização, e com base em testes-piloto que demonstraram uma distribuição adequada do composto quando instilado, optou-se

por essa via de administração. Após 15 minutos, os animais do grupo que recebeu PFB foram submetidos à instilação traqueal do composto na dose de 7 mL/kg, utilizando uma seringa de 3 mL. A administração foi realizada por meio de uma torneira de três vias, em quatro etapas, com intervalos de 5 minutos entre cada instilação. Para otimizar a distribuição, um quarto da dose foi administrado em cada uma das seguintes posições: Trendelenburg reverso, decúbito lateral direito, decúbito lateral esquerdo e Trendelenburg (Figura 3A). Durante breves períodos, a ventilação foi interrompida para a instilação do PFB, utilizando a torneira de três vias, sem comprometer a manutenção do experimento. Imediatamente após a administração, a ventilação convencional foi restabelecida, sendo essa mesma estratégia aplicada ao Grupo-Controle.

4.2.3 Ventilação

Tanto os animais doadores quanto os receptores foram mantidos em ventilação mecânica ao longo do experimento, utilizando um ventilador para roedores (Harvard Apparatus, modelo 683) com fração inspirada de oxigênio (FiO_2) de 100%, volume corrente de 10 mL/kg e frequência respiratória de 60 ciclos por minuto por duas horas.

No início e ao final de cada etapa experimental, os animais foram rapidamente desconectados do ventilador Harvard e conectados ao ventilador flexiVent (flexiVent®, SCIREQ, Montreal, Canadá) para avaliação da mecânica ventilatória, sem comprometimento do estado fisiológico ou da continuidade do experimento. O flexiVent, um sistema computadorizado, permitiu a realização de manobras ventilatórias controladas de pressão e volume para obtenção de medições precisas e reprodutíveis da mecânica respiratória. Após a conclusão das análises, os animais foram imediatamente reconectados ao ventilador Harvard, restabelecendo-se a ventilação mecânica nas condições iniciais. Os dados foram coletados e analisados por meio do software flexiWare7®, que possibilitou a visualização gráfica dos parâmetros ventilatórios e o armazenamento das informações experimentais.

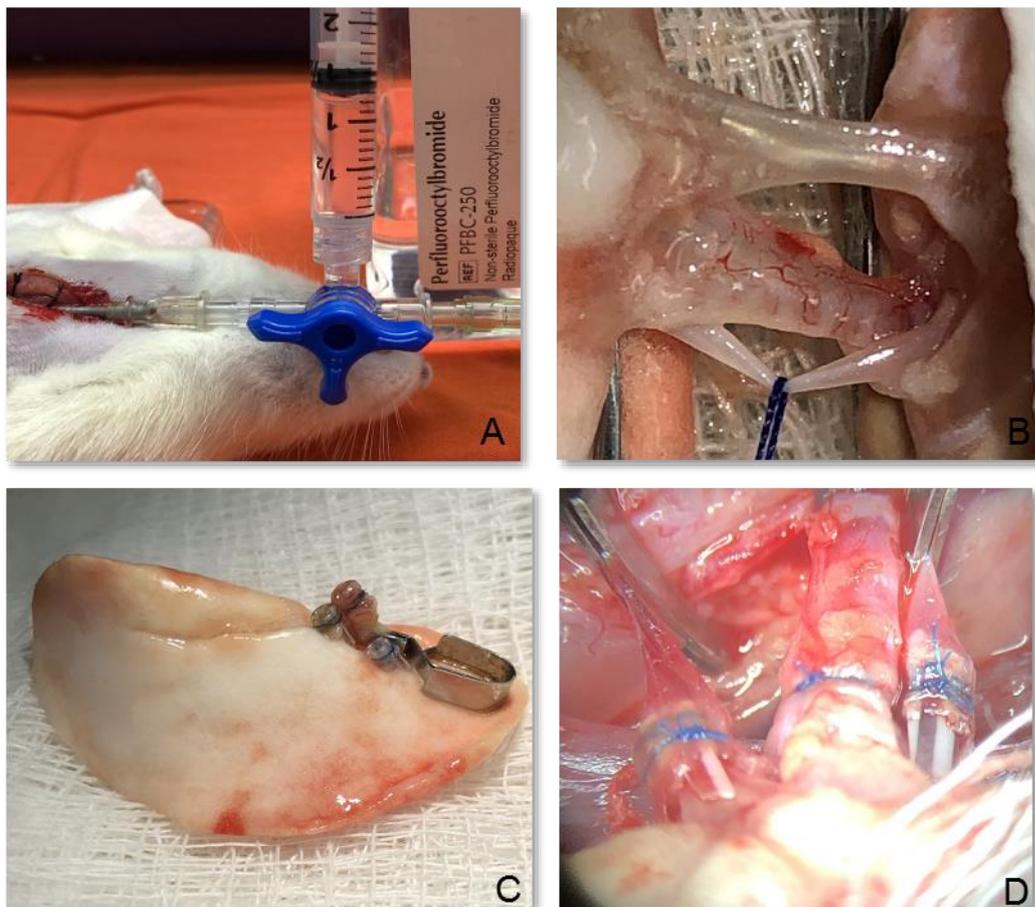
4.2.4 Perfusão e extração pulmonar

Com o rato em posição supina, foi infundida heparina a uma dose de 100UI/100g na veia cava abdominal. Uma toracotomia com ressecção do esterno foi realizada e o diafragma aberto radialmente com cautela para não lesionar o pulmão. Por meio da timectomia o coração foi exposto, procedendo com ventriculotomia direita adjacente à artéria pulmonar, secção da veia cava inferior, e ventrículo esquerdo longitudinalmente na ponta. A lavagem pulmonar

anterógrada foi realizada com 20ml de solução de preservação (Perfadex®, produzida e comercializada pela Vitrolife Göteborg, Suécia), por meio de uma cânula introduzida na artéria pulmonar pela ventriculotomia. A solução de preservação foi administrada por gravidade a partir de um reservatório posicionado 20cm acima do coração, com drenagem espontânea do efluente pela ventriculotomia esquerda. Após, foi realizada a perfusão retrógrada pela ventriculotomia esquerda com 10ml de solução de preservação²⁵. Ao término da lavagem, a traqueia foi ligada com um fio abaixo da cânula, e a extração pulmonar foi realizada em sentido crânio caudal a partir do estreito cérvico mediastinal superior, por tração anterior e inferior da traqueia com dissecação do mediastino posterior. O bloco cardiopulmonar foi removido e o processo de isquemia fria foi mantido por 6h a 4°C. Após este período, foi realizada a separação dos pulmões. O pulmão direito foi separado para análises e o pulmão esquerdo foi preparado para o implante por meio da técnica dos *cuffs* (Figura 3B e 3C).

4.2.5 Transplante

Os animais receptores foram anestesiados e mantidos vivos da mesma forma que os doadores. Foram mantidos em decúbito lateral direito e submetidos à toracotomia esquerda por meio de incisão no 5º espaço intercostal. O ligamento inferior foi cuidadosamente rompido para facilitar a exposição do hilo pulmonar pela tração do pulmão. Após a dissecação e clampeamento das estruturas hilares com o auxílio de microscópio estereoscópico (Zeiss, modelo Stemi 508), o enxerto foi posicionado sobre o pulmão nativo e o implante foi iniciado com uma secção parcial da parede da artéria pulmonar esquerda, progredindo-se o cuffs da artéria do doador para o interior da artéria receptora, seguido por fixação das estruturas com fio monofilamentar 7.0. Este mesmo procedimento foi realizado para o brônquio³⁵. Após a colocação e fixação dos cuffs, a ligadura do brônquio foi removida e a ventilação lentamente restabelecida, desfazendo-se as atelectasias (Figura 3D). A seguir, o clamp da artéria pulmonar foi aberto, permitindo a circulação anterógrada e saída de coágulos e ar, sendo, novamente, fechada. Por fim, foi feita uma secção parcial da parede da veia pulmonar esquerda, progredindo-se o cuff da veia do doador e fixando-o. O clamp da veia foi retirado, seguido do clamp da artéria, restabelecendo a circulação anterógrada e a perfusão do enxerto.

Figura 3 - Procedimentos cirúrgicos

Fonte: Elaboração própria.

Nota: **A:** administração do PFB via traqueal; **B:** preparação do pulmão esquerdo; **C:** pulmão esquerdo com os cuffs; **D:** Implante do pulmão esquerdo no receptor.

4.2.6 Reperfusão no animal receptor

O período de reperfusão começou a ser contado após a abertura da artéria pulmonar e começo da perfusão do pulmão recém-implantado. A reperfusão durou 2 horas. Após este período, o lado esquerdo do pulmão foi removido para análises.

4.2.7 Analgesia dos animais

Imediatamente antes do fechamento da ferida cirúrgica, foi feita a injeção de cloridrato de lidocaína 0,5% (2 mg/kg) no local da toracotomia. O fechamento do tórax foi realizado por planos separados com fio monofilamentar 2.0. Os animais receberam analgesia com dipirona sódica (400 mg/kg) por via intramuscular, além de tramadol (5 mg/kg) por via subcutânea e foram mantidos vivos por 120 minutos.

4.2.8 Descarte/eutanásia

A eutanásia ocorreu por meio da exsanguinação da veia cava abdominal, a carcaça do animal foi acondicionada em saco de resíduo biológico, acondicionado em câmara fria até a incineração conforme a rotina do laboratório.

4.3 ANÁLISES NO DOADOR

4.3.1 Gasometria, leucometria e monitorização hemodinâmica

Amostras de sangue foram coletadas (basal e final), nos animais doadores, da artéria e veia femoral para determinação dos parâmetros pO_2 , pCO_2 , pH, Saturação O_2 , creatinina, íons Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- e lactato. Foram coletados amostra sanguínea da cauda de cada animal para contagem de leucócitos. Durante todo o procedimento, foi monitorizada a pressão arterial sistêmica e os dados computados a cada 10 minutos.

4.3.2 Avaliação mecânica ventilatória

Após a conexão do animal ao ventilador dedicado, conforme descrito anteriormente, foi realizado um período de cinco minutos para estabilização, durante o qual foram verificadas possíveis fugas de ar, obstruções no sistema e ajustes no posicionamento do animal em relação ao ventilador.

A avaliação da mecânica respiratória foi realizada em dois momentos distintos: a primeira medição foi considerada como basal, enquanto a segunda ocorreu no final do experimento. Foi empregada a técnica Snapshot (flexiVent; SCIREQ Inc, Montreal, Quebec, Canadá) para quantificar a resistência do sistema respiratório (Rrs) e a complacência do sistema respiratório (Cr_s). Os dados foram considerados válidos apenas quando o coeficiente de determinação (COD) foi superior a 0,9, estabelecendo um critério de exclusão para garantir a confiabilidade dos resultados.

4.3.3 Preparo do pulmão direito do doador para análises

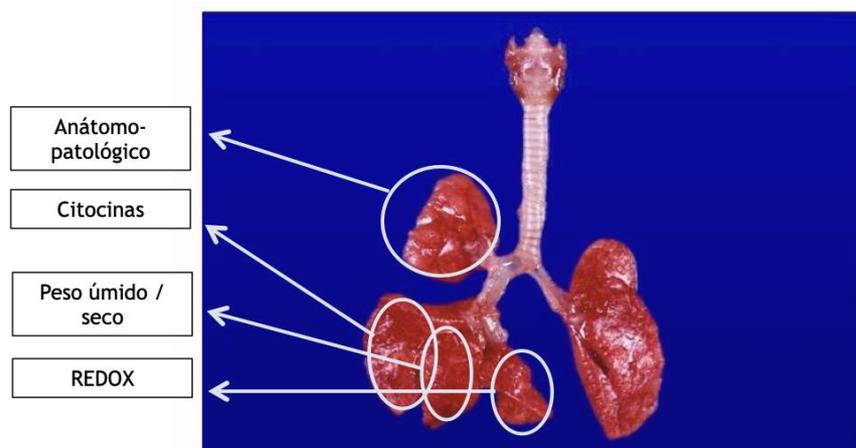
Os pulmões de ratos apresentam uma anatomia distinta, sendo compostos por quatro lobos no pulmão direito (cranial, médio, caudal e acessório) e um único lobo no pulmão

esquerdo. Com base nessa estrutura, os pulmões foram subdivididos estrategicamente para a realização das diferentes análises do estudo, conforme ilustrado na Figura 4.

Cada lobo do pulmão direito foi designado para uma análise específica:

1. Lobo Cranial: Utilizado para a análise anatomopatológica, permitindo a avaliação histológica e morfológica das alterações pulmonares;
2. Lobo Médio: Destinado à quantificação de citocinas, possibilitando a caracterização da resposta inflamatória no tecido pulmonar;
3. Lobo Caudal: Reservado para a determinação da relação peso úmido/seco, um parâmetro essencial para avaliar a presença de edema pulmonar;
4. Lobo Acessório: Destinado à análise dos parâmetros REDOX, permitindo a avaliação do estresse oxidativo e da integridade bioquímica do tecido pulmonar.

Figura 4 - Relação das análises dos fragmentos pulmonares do rato doador



Fonte: Elaboração própria.

4.3.4 Anatomopatológico

Para a avaliação histológica o lobo cranial do pulmão do doador e o pulmão do receptor, foram cuidadosamente coletados, lavados com solução fisiológica a 4°C e armazenados em solução de formol a 10% por 24 horas. Em seguida, as caixetas com o fragmento pulmonar foram acondicionadas em etanol a 70% até a inclusão dos blocos em parafinas. Após os processos de inclusão dos blocos em parafinas, o tecido foi fixado em lâmina e corado com hematoxilina e eosina. As lâminas já prontas foram digitalizadas pelo sistema denominado Scanscope CS System Aperio Technologies, IC., CA, USA) com objetiva Olympus UPlanSApo 20x com especificações 40x/0.75 acoplada ao *scanner*. As imagens já digitalizadas foram

transferidas para o software de análises Aperio ImageScope View Aperio Technologies, IC., CA, USA). Para a análise de edema perivascular, selecionamos, manualmente, 10 vasos e a área do edema foi quantificada pelo software. Na quantificação neutrofílica, para cada lâmina de tecido pulmonar, foram selecionados 10 campos de estudo, distribuídos de forma aleatória pela lâmina. Em cada campo, contamos a quantidade de polimorfonucleares presente em uma região de septo pulmonar medindo, aproximadamente, 1 mm. A relação de polimorfonucleares/tamanho de septo foi, então, analisada e seus resultados anotados. Os pulmões foram avaliados por dois investigadores cegos³⁷.

4.3.5 Peso úmido/peso seco

O lobo caudal do pulmão direito do doador foi utilizado para calcular a relação peso úmido/seco. O peso úmido (em mg) foi medido primeiro; o peso seco (em mg) foi medido após o tecido ter sido seco durante 3 dias em estufa a +80°C.

4.3.6 Dosagem de citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10

O lobo médio do pulmão direito do doador foi coletado e armazenado a -80 C até o uso. As citocinas fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-1 β , IL-6 e IL-10 foram quantificadas por meio do método multiplex/luminex com o kit MILLIPLEX® MAP (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA). Todo o ensaio foi desenvolvido de acordo com o protocolo do fabricante. Para a extração da proteína total, o fragmento do tecido pulmonar foi homogenizado em PowerLyzer 24 Homogenizer e ressuspenso em 1mL de tampão de lise de proteína (RIPA Buffer, Millipore®) contendo inibidor de protease, 1 μ g/mL, de aprotinina, 1 μ g/mL de leupeptina e 1 mmol/mL de PMSF. Em seguida, as amostras foram deixadas em repouso por 30 minutos a 4°C. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm por 30 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado.

O filtro da placa contendo 96 poços foi lavado com Bioplex Wash Buffer. Em seguida, foram adicionadas *beads* conjugadas com os anticorpos anticitocinas e lavados com Bioplex Wash Buffer, e as amostras adicionadas na placa. As amostras permaneceram, então, incubadas por 2 horas e, após, novamente, lavadas com Bioplex Wash Buffer. Em seguida, foi adicionado em cada poço o anticorpo biotinilado para detecção do epítipo diferente da citocina e incubado por 1 hora. Novas lavagens foram realizadas com Bioplex Wash Buffer com ressusensão dos

beads que foram analisados pelo Bioplex Suspension Array System/Luminex (Bio-Rad) utilizando o Software Bio-Plex Manager, versão 4.0 (Bio-Rad).

4.3.7 Marcadores de estresse oxidativo

Os marcadores de estresse oxidativo (redox) no tecido pulmonar são importantes para avaliar o equilíbrio entre processos oxidativos e antioxidativos, refletindo o estado redox celular. Esses marcadores são fundamentais em estudos que envolvem lesão tecidual, inflamação e mecanismos de proteção em condições de estresse oxidativo, como no transplante pulmonar, isquemia-reperfusão e outras doenças pulmonares. Depois de homogeneizado em tampão PBS (do Inglês, *Phosphate-buffered Saline*), o lobo acessório foi utilizado para os ensaios bioquímicos. Os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) foram avaliados pelo ensaio do sal azul de nitrotetrazólio (Cat. No. N6876, Sigma-Aldrich) em um comprimento de onda de 630 nm. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi medida monitorando a inibição da auto-oxidação da adrenalina (Cat. No. E4642, Sigma-Aldrich) em um comprimento de onda de 480 nm. A atividade da catalase (CAT) foi medida pela taxa de diminuição das concentrações de peróxido de hidrogênio (Cat. No. 102329854, Sigma-Aldrich) monitoradas a 240 nm. Como índice de dano oxidativo induzido pela peroxidação lipídica, utilizamos o método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Cat. No. T5500, Sigma-Aldrich) para analisar produtos de malondialdeído (MDA) durante uma reação de aquecimento ácido monitorada a 532 nm, conforme descrito anteriormente⁵⁹.

4.4 ANÁLISES NO RECEPTOR

No animal receptor, foram coletadas amostras para gasometria e leucometria, além da realização da avaliação da mecânica ventilatória e monitorização hemodinâmica, seguindo o mesmo protocolo aplicado ao animal doador, tanto no período basal quanto no final.

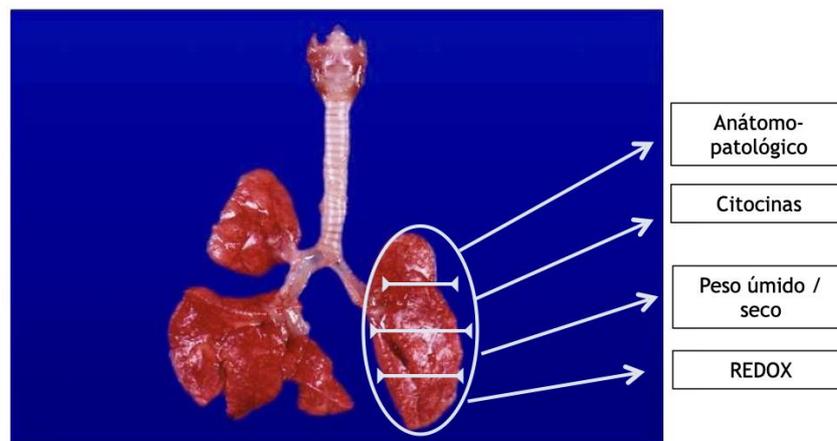
Após o período de reperfusão do transplante unilateral, o pulmão esquerdo do receptor foi fragmentado em quatro segmentos, permitindo a realização das mesmas análises conduzidas no pulmão direito do doador. Especificamente, as amostras foram distribuídas da seguinte forma (Figura 5):

1. Uma porção destinada à análise anatomopatológica;
2. Outra fração utilizada para a determinação da relação peso úmido/peso seco;

3. Uma parte direcionada à quantificação de citocinas;
4. E a última porção reservada para a análise de marcadores de estresse oxidativo.

Essa segmentação anatômica foi fundamental para assegurar a padronização das análises, permitindo a obtenção de dados precisos e reprodutíveis nos pulmões submetidos ao protocolo experimental, seguindo os mesmos passos cabíveis do animal doador descrito no item 4.3.

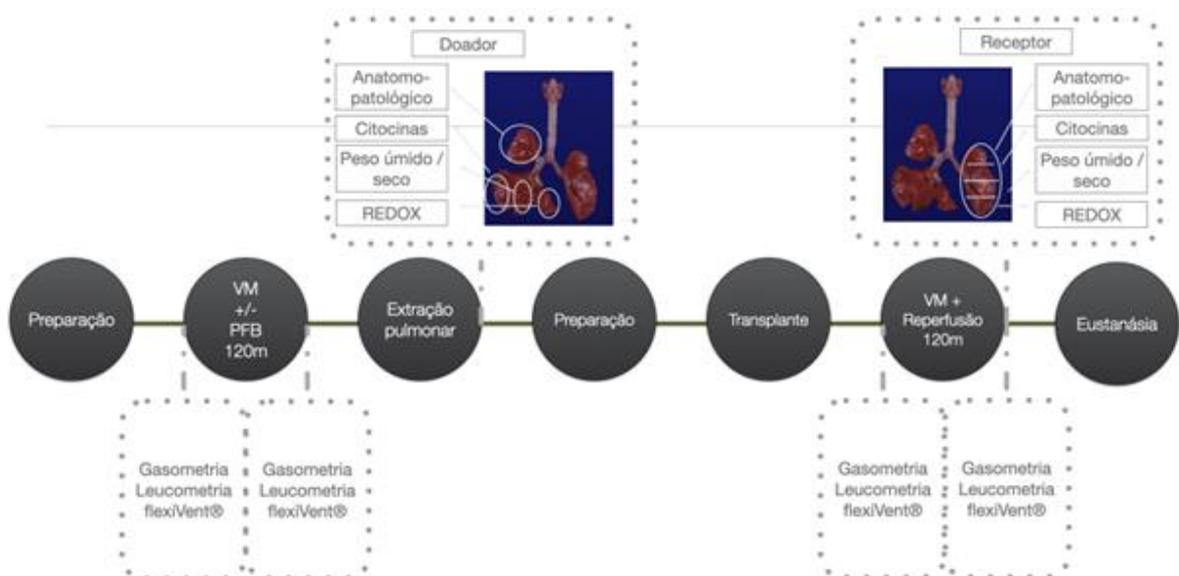
Figura 5 - Relação das análises dos fragmentos pulmonares do rato receptor



Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 6, resumimos os momentos quando foram coletadas todas as análises.

Figura 6 - Momentos das análises



Fonte: Elaboração própria.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Usamos medianas e quartis para descrever as distribuições das variáveis ao longo do tempo. Na análise univariável das comparações dos parâmetros hemodinâmica, gasometrias, de mecânica pulmonar, imunológicos, patológicos e de estresse oxidativo entre os grupos PCB e Controle, utilizamos o teste de Mann-Whitney. Considerando que as variáveis de desfecho se correlacionam com seus valores basais, quando avaliadas duas ou mais vezes, e que um dos pulmões do receptor pertencia ao doador, fizemos análises multivariadas para ajuste dos efeitos, conforme descrito a seguir:

Para análise da pressão arterial média (PAM) do doador ao longo do tempo, usamos equações de estimação generalizadas visando comparar a PAM do minuto 20, que corresponde à primeira medida após a intervenção, em diante. No modelo, consideramos um termo de interação entre grupo e tempo e a adição da PAM basal como variável de ajuste. Sendo assim, as estimativas de efeito correspondem à diferença média entre PFB e controle ajustado para a PAM basal. Para o receptor, não houve ajuste para o valor basal, já que todas as avaliações da PAM durante a cirurgia ocorreram após a intervenção. Os contrastes momento a momento foram, então, extraídos do modelo.

As análises para as variáveis obtidas por gasometria do doador e do receptor ao final do procedimento foram analisadas usando modelos de regressão logística ordinal com a medida final como desfecho, e a medida inicial e o grupo de tratamento como covariáveis.

Para as variáveis de mecânica pulmonar, também usamos modelos de regressão logística ordinal com ajustes para os respectivos valores basais do doador. Na análise dos parâmetros de mecânica pulmonar do receptor, além do valor basal do receptor, ajustamos também para o valor basal do doador, considerando que a mecânica resultante é composta parcialmente pela mecânica de cada um dos pulmões.

Variáveis de imunologia, patologia e estresse oxidativo dispunham somente de uma medida e, por isso, não contaram com análises ajustadas.

Um alfa de 0,05 foi considerado. Todas as análises foram conduzidas usando o software R, versão 4.2.2.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS

Os animais do grupos Controle e PFB com pesos médios e leucometrias iniciais e finais foram semelhantes para doadores e receptores. Essa uniformidade favoreceu comparabilidade entre os grupos, minimizando viés relacionado a diferenças fisiológicas, como metabolismo ou capacidade pulmonar (Tabela 2 e 3).

Tabela 2 - Características dos animais incluídos

Característica	Doador		Receptor	
	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹
Peso (g)	349 (320, 374)	343 (315, 369)	368 (363, 388)	372 (348, 404)
Tempo de preparo no bloco	60 (30, 60)	60 (44, 94)	-	-

Fonte: Elaboração própria.

¹Mediana (Q1, Q3)

Tabela 3 - Leucometria iniciais e finais

Características	Doador			Receptor		
	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Valor p ²	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Valor p ²
Leucócitos - Inicial	11,625 (10,400, 13,625)	11,625 (8,600, 14,175)	0,958	13,175 (10,325, 15,475)	13,950 (11,300, 15,475)	0,874
Leucócitos - Final	8,825 (5,800, 14,500)	7,425 (5,800, 10,525)	0,526 ^a	9,550 (7,675, 13,025)	9,600 (8,850, 18,150)	0,712 ^b

Fonte: Elaboração própria.

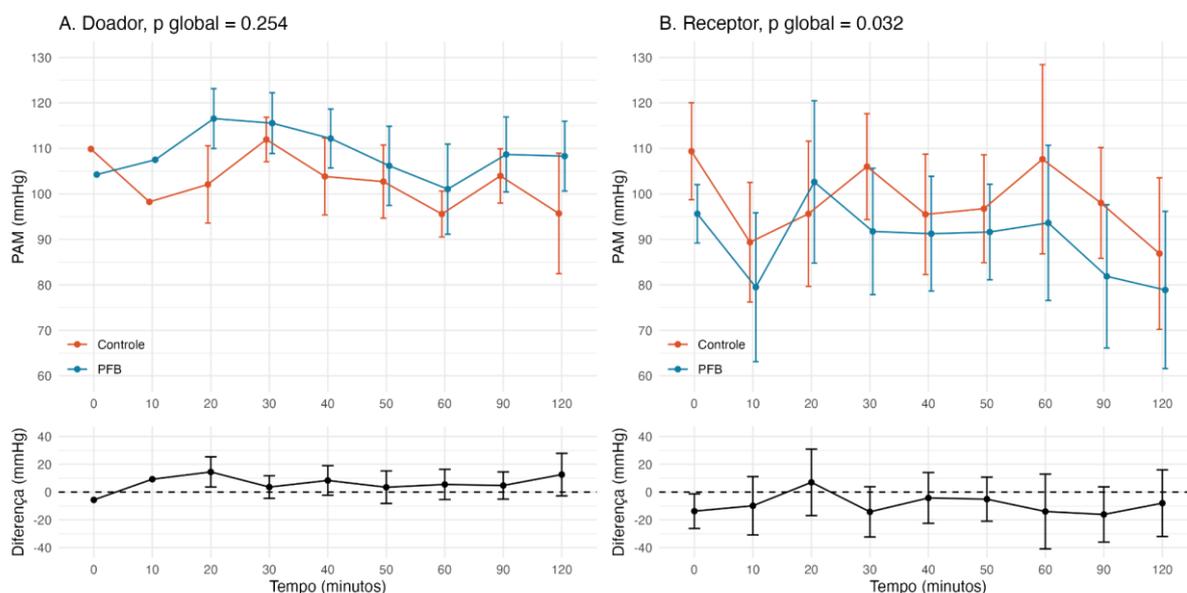
¹Mediana (Q1, Q3) ²Teste de Wilcoxon.

5.2 COMPORTAMENTO HEMODINÂMICO

Nos doadores, aos 20 minutos, após a administração do PFB, foi identificada uma PAM mais elevada no Grupo-PFB ($p = 0,009$). Nos demais momentos, essa diferença não se manteve (valor p global = 0,254).

Nos receptores, o Grupo-PFB apresentou pressão arterial mais baixa (valor p global = 0,032 - Figura 7), particularmente no momento inicial ($p = 0,030$ no tempo 0 - Anexos A, B e C).

Figura 7 - Comportamento hemodinâmico durante o experimento



Fonte: Elaboração própria.

Nota: Evolução da pressão arterial média (PAM) em doadores (A) e receptores (B) ao longo do tempo nos grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul). No painel inferior, a diferença entre os grupos ao longo do tempo é apresentada. Para os doadores, as estimativas a partir dos 20 minutos foram ajustadas para o valor basal. Para o receptor, não houve ajuste para o valor basal, já que todas as avaliações da PAM durante a cirurgia ocorreram após a intervenção.

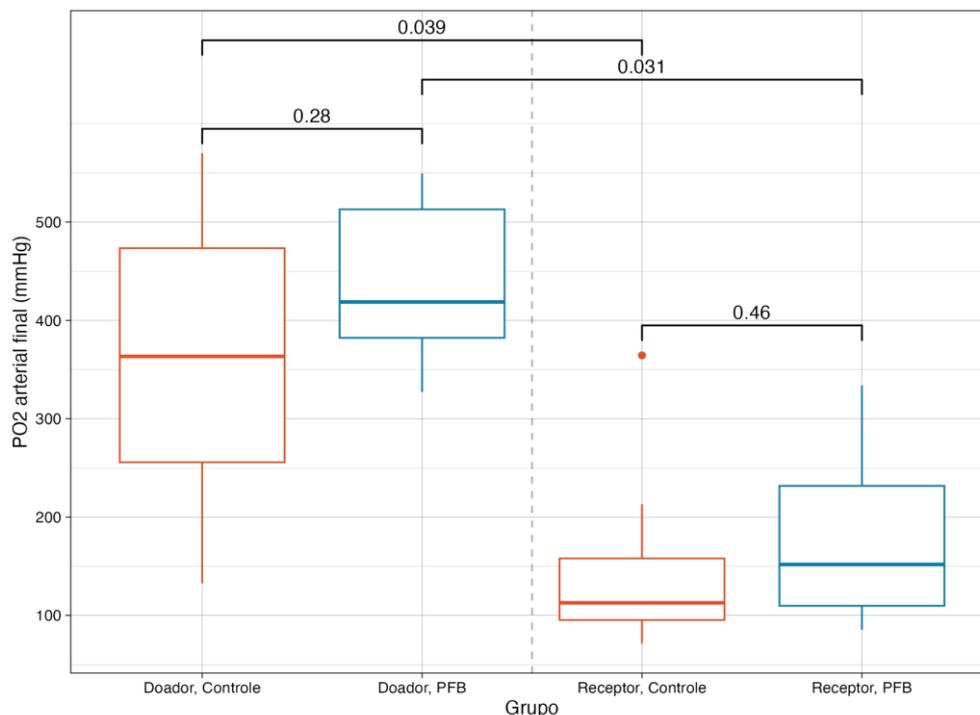
5.3 PARÂMETROS GASOMÉTRICOS

5.3.1 pO_2 arterial

Não houve diferença na pO_2 arterial entre os grupos Controle e PFB, tanto nos doadores quanto nos receptores ($p = 0,281$ e $p = 0,463$, respectivamente). Numa análise intragrupo, observamos, no Grupo-Controle, que a pO_2 arterial final apresentou queda significativa após o transplante (mediana de 363 para 113 mmHg; $p = 0,039$) e, de forma semelhante, no Grupo-

PFB, também houve redução significativa da pO_2 (419 para 152 mmHg; $p = 0,031$ - Figura 8). Não houveram outras alterações gasométricas significativas (Anexo D).

Figura 8 - Pressão de oxigênio nas gasometrias arteriais



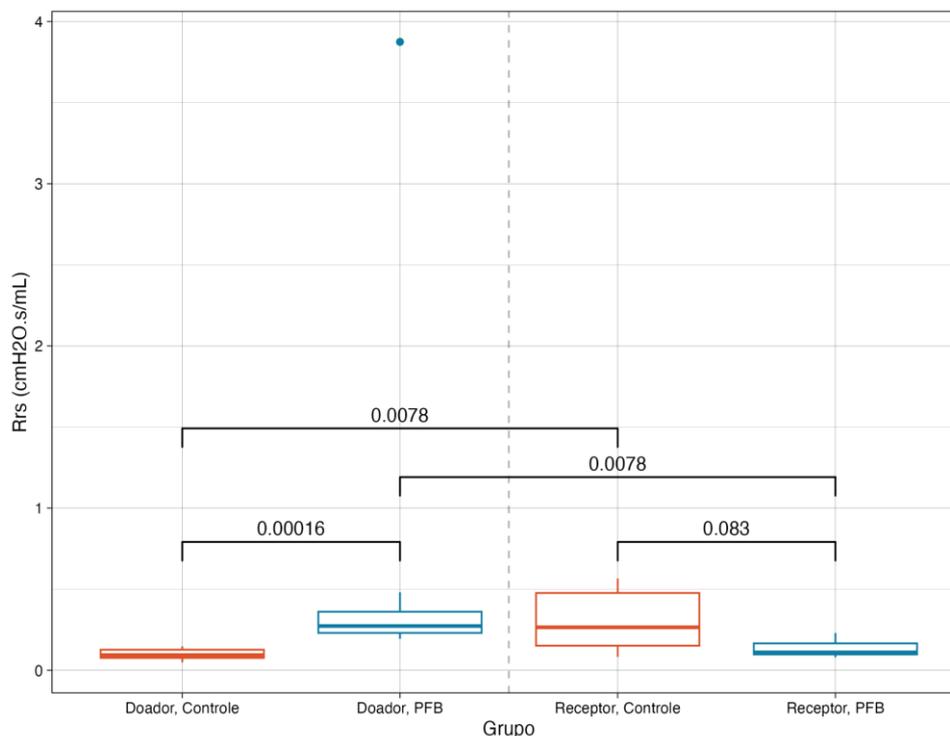
Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação dos valores de pO_2 arterial final (mmHg) entre os grupos Controle e PFB, nos animais doadores (painel esquerdo) e receptores (painel direito). Os testes estatísticos indicam que não houve diferença significativa entre os grupos para os doadores ($p = 0,281$) e para os receptores ($p = 0,463$). Análise intragrupo mostra que piora da pO_2 após o transplante tanto no Grupo-Controle quanto no Grupo-PFB.

5.4 MECÂNICA PULMONAR

5.4.1 Resistência do Sistema Respiratório (Rrs)

A resistência do sistema respiratório dos doadores foi significativamente maior no Grupo-PFB (0,27 vs. 0,09 no Grupo-Controle; $p < 0,001$). Já nos receptores, a resistência após o transplante foi menor no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Controle (0,11 vs. 0,27; $p = 0,083$), porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Da mesma forma, numa análise intragrupo, no Grupo-Controle, a resistência respiratória final aumentou significativamente após o transplante (0,09 para 0,27; $p = 0,008$). Já no Grupo-PFB, observou-se uma redução significativa dessa variável entre doador e receptor (0,27 para 0,11; $p = 0,008$ - Figura 9 - Anexo E).

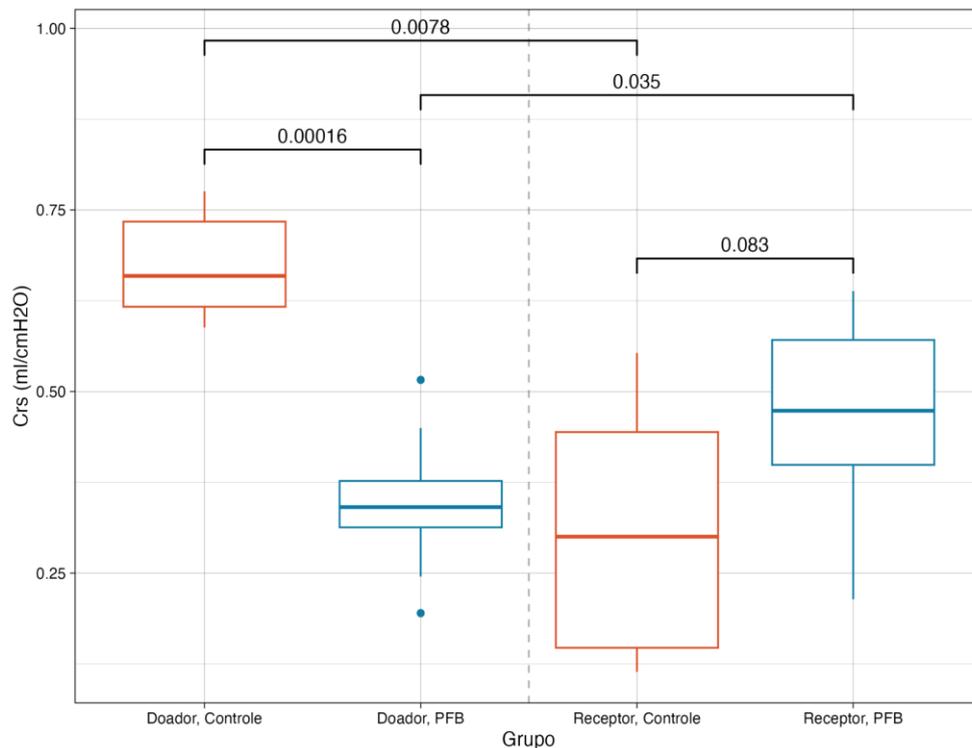
Figura 9 - Resistência do Sistema Respiratório (Rrs) durante o experimento

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da resistência do sistema respiratório (Rrs, cmH₂O·s/mL) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, a resistência do sistema respiratório foi significativamente maior no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Controle ($p < 0,001$), indicando um possível impacto do tratamento sobre essa variável. No Grupo-Receptor, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,083$). Na análise intragrupo, no Grupo-Controle, a resistência respiratória final aumentou significativamente após o transplante (0,09 para 0,27; $p = 0,008$). Já no Grupo-PFB, observou-se uma redução significativa (0,27 para 0,11; $p = 0,008$). Valores de p obtidos por modelos de regressão logística ordinal.

5.4.2 Complacência do Sistema Respiratório (Crs)

Nos doadores, a complacência foi reduzida no Grupo-PFB em relação ao Controle (0,34 vs. 0,66; $p < 0,001$). Nos receptores, no Grupo-PFB, a complacência foi maior ao final do experimento (0,47 vs. 0,30 no Controle, $p = 0,083$), porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Numa análise intragrupo, observou-se queda significativa da complacência respiratória no Grupo-Controle após o transplante (doador: 0,66 para receptor: 0,30; $p = 0,008$). No Grupo-PFB, ao contrário, houve aumento significativo no receptor (0,34 para 0,47; $p = 0,035$ - Figura 10).

Figura 10 - Complacência do Sistema Respiratório (Crs) durante o experimento

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da complacência do sistema respiratório (Crs, ml/cmH₂O) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, a complacência do sistema respiratório foi significativamente menor no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Controlle ($p < 0,001$), sugerindo um impacto negativo do tratamento sobre essa variável. Porém, no Grupo-Receptor, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sugerindo até mesmo uma tendência a melhora da complacência com o uso do PFB ($p = 0,083$). Numa análise intragrupo, houve queda da complacência após o transplante no Grupo-Controlle e melhora da complacência no Grupo-PFB ($p = 0,008$; $p = 0,035$, respectivamente). Valores de p obtidos por modelos de regressão logística ordinal.

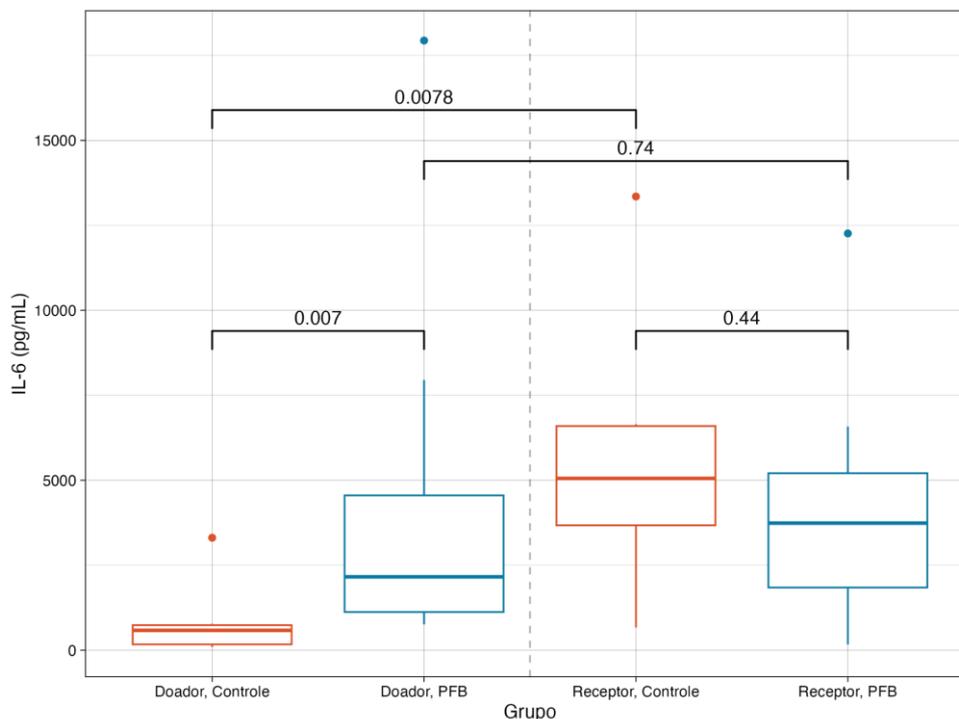
5.5 CITOCINAS E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

5.5.1 IL-6

A concentração de IL-6 foi significativamente maior no Grupo-PFB dos doadores (mediana 2,158 vs. 583 pg/mL; $p = 0,007$), indicando uma resposta inflamatória inicial mais pronunciada associada ao uso do líquido. Nos receptores, os níveis de IL-6 também foram mais baixos no Grupo-PFB, embora sem significância estatística (mediana [quartis] 3.738 [1.488, 5.665] vs. 5.054 [2.857, 6.613] pg/mL, $p = 0,442$). Numa análise intragrupo, observou-se aumento significativo nos receptores do Grupo-Controlle em comparação aos respectivos doadores após o transplante (mediana de 5.054 vs. 583; $p = 0,008$). No grupo submetido à ventilação líquida com PFB, não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre

os níveis de IL-6 nos doadores e receptores (mediana de 2.158 vs. 3.738; $p = 0,742$ - Figura 11).

Figura 11 - Gráficos com intervalos de IL6

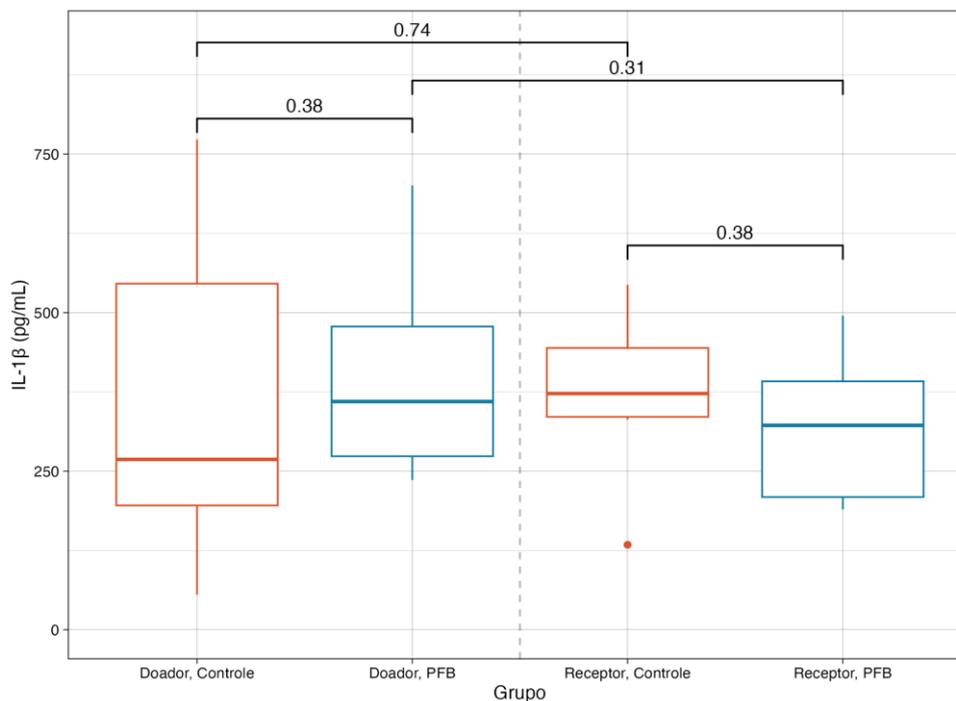


Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da concentração de interleucina-6 (IL-6, pg/mL) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, a concentração de IL-6 foi significativamente maior no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Control ($p = 0,007$), sugerindo um possível efeito inflamatório associado ao tratamento. No Grupo-Receptor, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,442$). Numa análise intragrupo, observou-se aumento significativo nos receptores do Grupo-Control em comparação aos respectivos doadores após o transplante (mediana de 5.054 vs. 583; $p = 0,008$). No grupo submetido à ventilação líquida com PFB, não foi identificada diferença. As distribuições são descritas por medianas e quartis. Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.2 IL-1 β

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de IL-1 β tanto nos doadores como nos receptores ($p = 0,382$ e $p = 0,382$, respectivamente). Numa análise intragrupo pré-transplante e pós-transplante, não houve diferença significativa nos níveis de IL-1 β em nenhum dos grupos (Controle: $p = 0,742$; PFB: $p = 0,313$ - Figura 12).

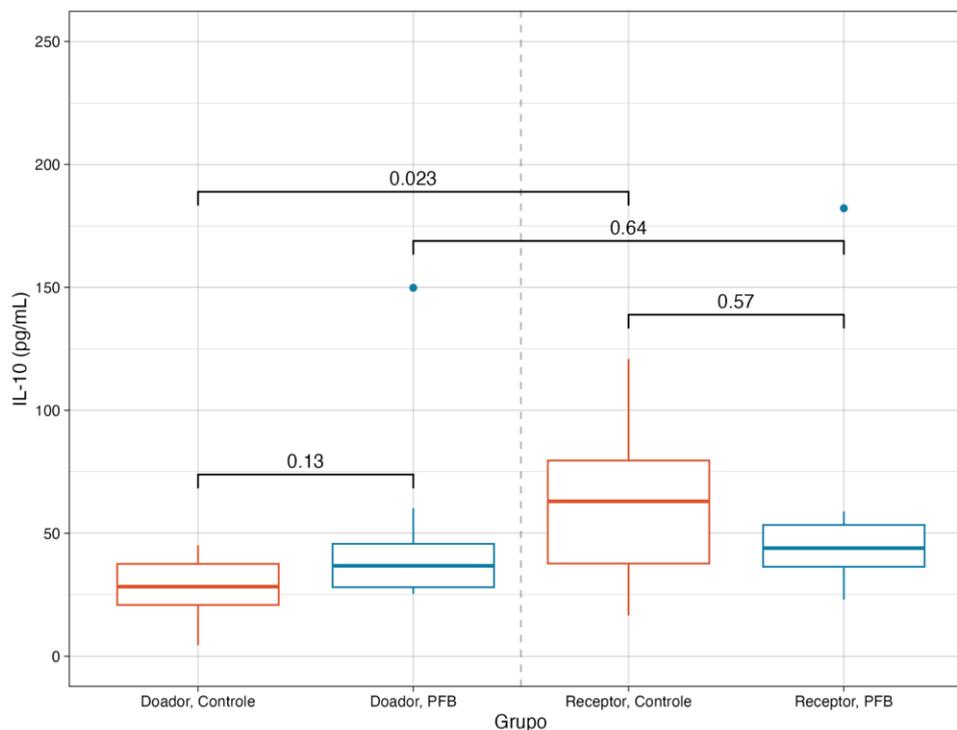
Figura 12 - Gráficos com intervalos de IL1 β 

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da concentração de interleucina-1 beta (IL-1 β , pg/mL) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. Não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de IL-1 β entre os grupos tanto no doador ($p = 0,382$) quanto no receptor ($p = 0,382$). Numa análise intragrupo pré-transplante e pós-transplante, não houve diferença significativa (Controle: $p = 0,742$; PFB: $p = 0,313$). As distribuições são descritas por medianas e quartis. Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.3 IL-10

Os níveis de IL-10 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos grupos de doadores e receptores ($p = 0,130$ e $p = 0,574$, respectivamente). Quando avaliados os efeitos do transplante, no Grupo-Controle, os níveis de IL-10 aumentaram significativamente nos receptores (28 para 63 pg/mL; $p = 0,023$). Enquanto que, no Grupo-PFB, não houve diferença significativa (37 para 44 pg/mL; $p = 0,641$ - Figura 13).

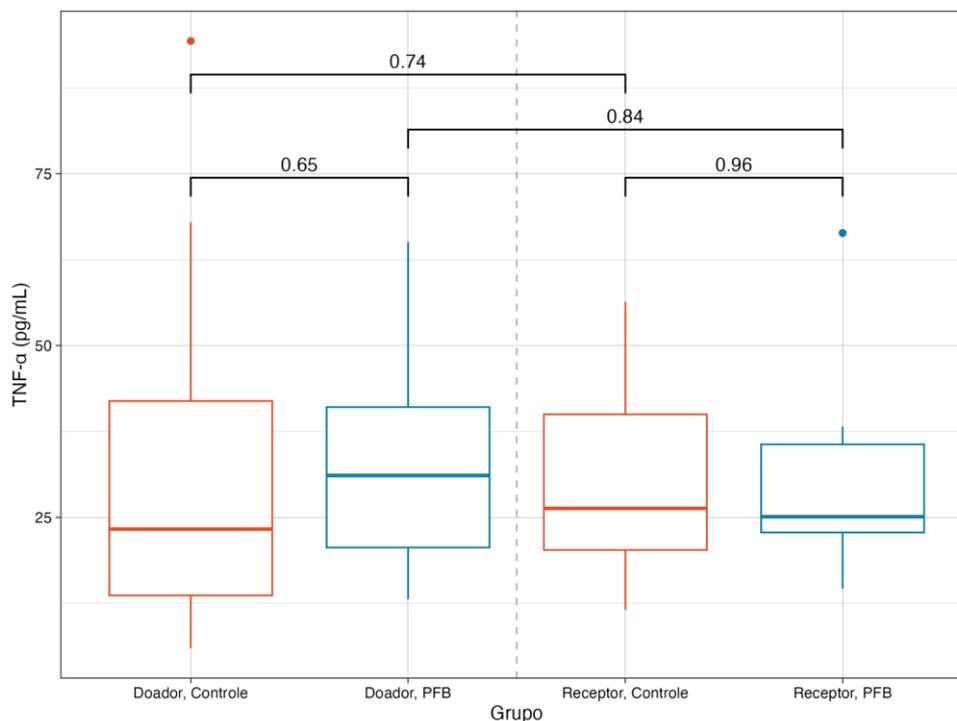
Figura 13 - Gráficos com intervalos de IL-10

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Níveis de IL-10 (pg/mL) nos grupos Doador e Receptor após transplante pulmonar em modelo animal. A comparação foi feita entre os grupos Controle e PFB. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Doador: $p = 0,130$; Receptor: $p = 0,574$). Quando avaliados os efeitos do transplante, no Grupo-Controle, os níveis de IL-10 aumentaram significativamente nos receptores (28 para 63 pg/mL; $p = 0,023$). Enquanto que, no Grupo-PFB, não houve diferença significativa (37 para 44 pg/mL; $p = 0,641$). As distribuições são descritas por medianas e quartis. Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.4 TNF- α

A análise dos níveis de TNF- α (pg/mL) indicou ausência de diferença estatisticamente significativa nos grupos de doadores ($p = 0,645$) e receptores ($p = 0,959$). No Grupo-Controle, os níveis medianos foram semelhantes entre doador (23 [13, 51] pg/mL) e receptor (26 [18, 42] pg/mL; $p = 0,742$), e resultado semelhante foi encontrado no Grupo-PFB, com mediana de 31 (20, 43) pg/mL no doador e 25 (22, 36) pg/mL no receptor ($p = 0,844$ - Figura 14).

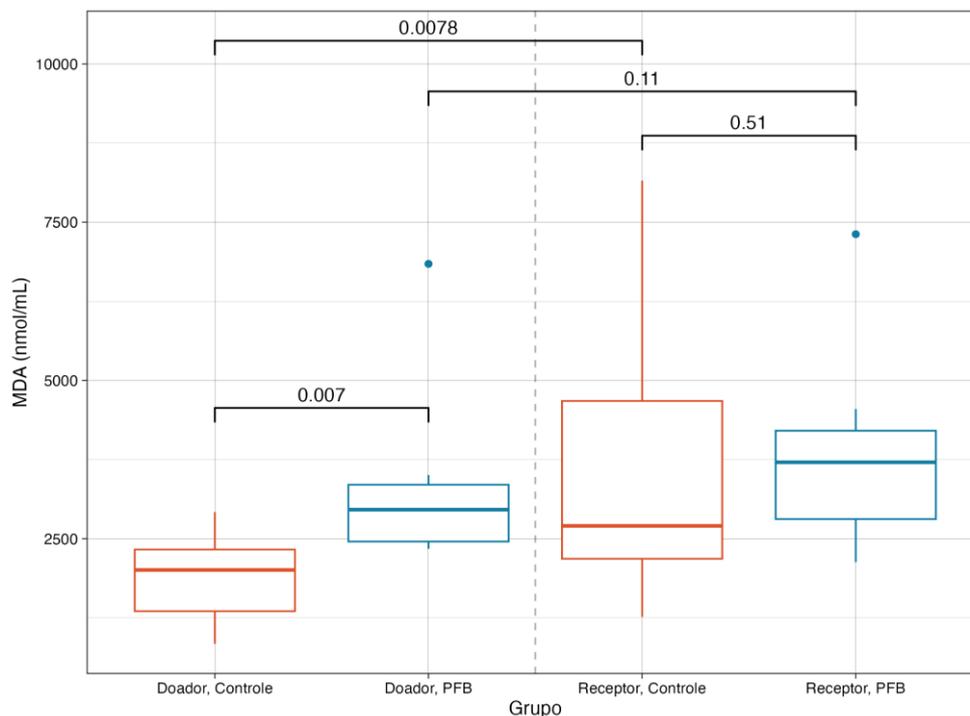
Figura 14 - Gráficos com intervalos de TNF

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Níveis de TNF- α (pg/mL) nos grupos Doador e Receptor após transplante pulmonar em modelo animal. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Doador: $p = 0,645$; Receptor: $p = 0,959$; Controle: $p = 0,742$ e PFB: $p = 0,844$). As distribuições são descritas por medianas e quartis. Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.5 Malondialdeído (MDA)

O MDA, marcador de peroxidação lipídica e estresse oxidativo, foi significativamente mais elevado nos doadores tratados com PFB em comparação ao Grupo-Controle (2.959 [2.421, 3.403] vs. 2.006 [1.322, 2.405] nmol/mL, $p = 0,007$). Nos receptores, não houve diferença estatística (3.707 [2.740, 4.320] vs. 2.702 [1.935, 5.655] nmol/mL, $p = 0,505$). Quando avaliados os efeitos do transplante, o Controle também apresentou elevação significativa nos receptores em relação aos doadores (mediana de 2.702 vs. 2.006; $p = 0,008$). No entanto, no Grupo-PFB, essa diferença não atingiu significância estatística (mediana de 3.707 vs. 2.959; $p = 0,109$ - Figura 15).

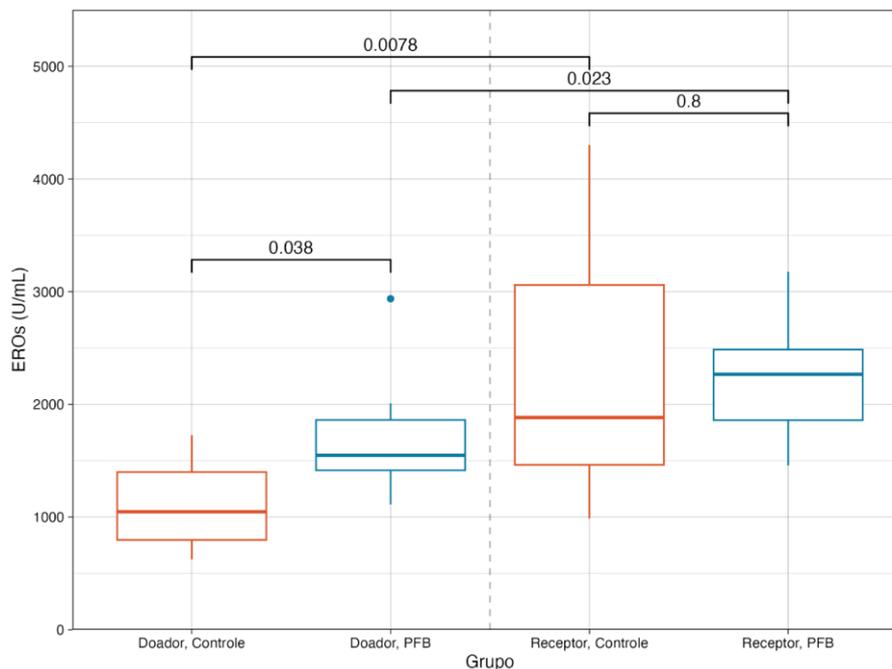
Figura 15 - Gráficos com intervalos de MDA

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação dos níveis de malondialdeído (MDA) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, os níveis de MDA foram significativamente maiores no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Control (p = 0,007). No Grupo-Receptor, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (p = 0,505). Quando avaliados os efeitos do transplante, o Controle também apresentou elevação significativa (p = 0,008). No entanto, no Grupo-PFB, essa diferença não atingiu significância estatística (p = 0,109). As distribuições são descritas por medianas e quartis. Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.6 Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

As espécies reativas de oxigênio (EROs) também foram avaliadas. Nos doadores, as EROs no sobrenadante foram significativamente mais elevadas no Grupo-PFB em comparação ao Controle (mediana [quartis] 1.548 [1.403, 1.911] vs. 1.047 [797, 1.470] U/mL, p = 0,038). Nos receptores, as EROs não apresentaram diferença estatística (p = 0,798). Numa análise intragrupo, as EROs no sobrenadante aumentaram significativamente após o transplante nos receptores em ambos os grupos (Controle: 1.047 para 1.883, p = 0,008; PFB: 1.548 para 2.267, p = 0,023 - Figura 16 e Anexo B).

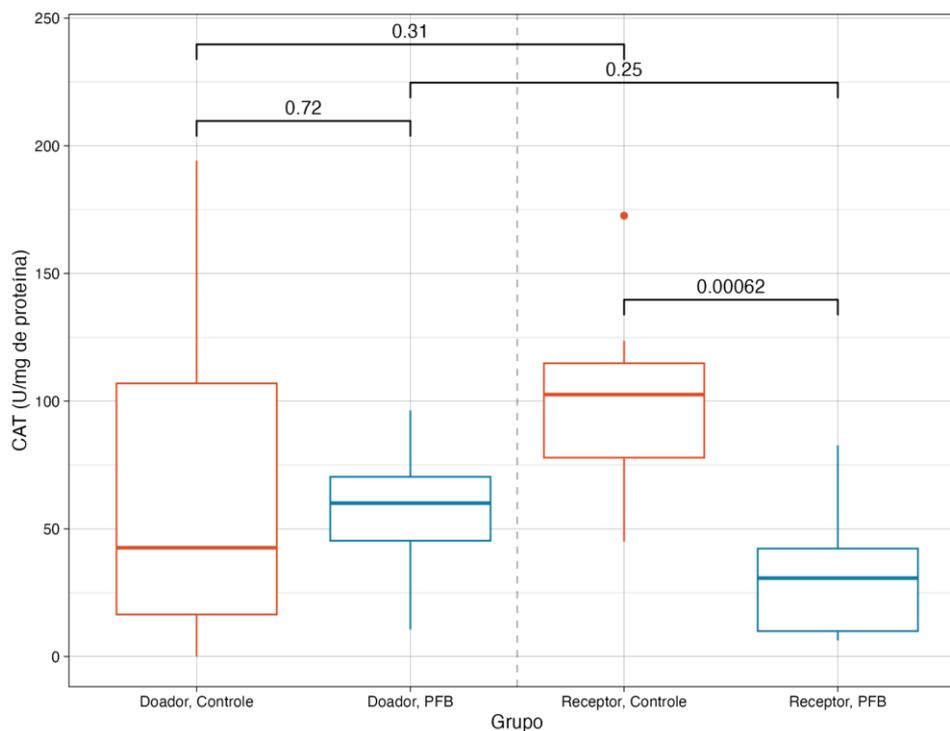
Figura 16 - Gráficos com intervalos de EROS

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) em U/mL entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, os níveis de EROS foram significativamente maiores no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Controlle ($p = 0,038$). No Grupo-Receptor, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,798$). Numa análise intragrupo, as EROS no sobrenadante aumentaram significativamente em ambos os grupos (Controlle: $p = 0,008$; PFB: $p = 0,023$). Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.7 Catalase (CAT)

Em relação à atividade da catalase (CAT), um marcador de defesa antioxidante, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nos doadores ($p = 0,721$). No entanto, nos receptores, o Grupo-Controlle apresentou uma atividade significativamente maior de CAT em comparação ao Grupo-PFB (mediana [quartis] 103 [71, 118] vs. 31 [9, 43] U/mL, $p < 0,001$), indicando um consumo mais elevado de antioxidantes no grupo tratado com PFB. A atividade de catalase pré e pós-transplante manteve-se sem diferença significativa tanto no Grupo-Controlle quanto no Grupo-PFB ($p = 0,313$ e $p = 0,250$, respectivamente - Figura 17).

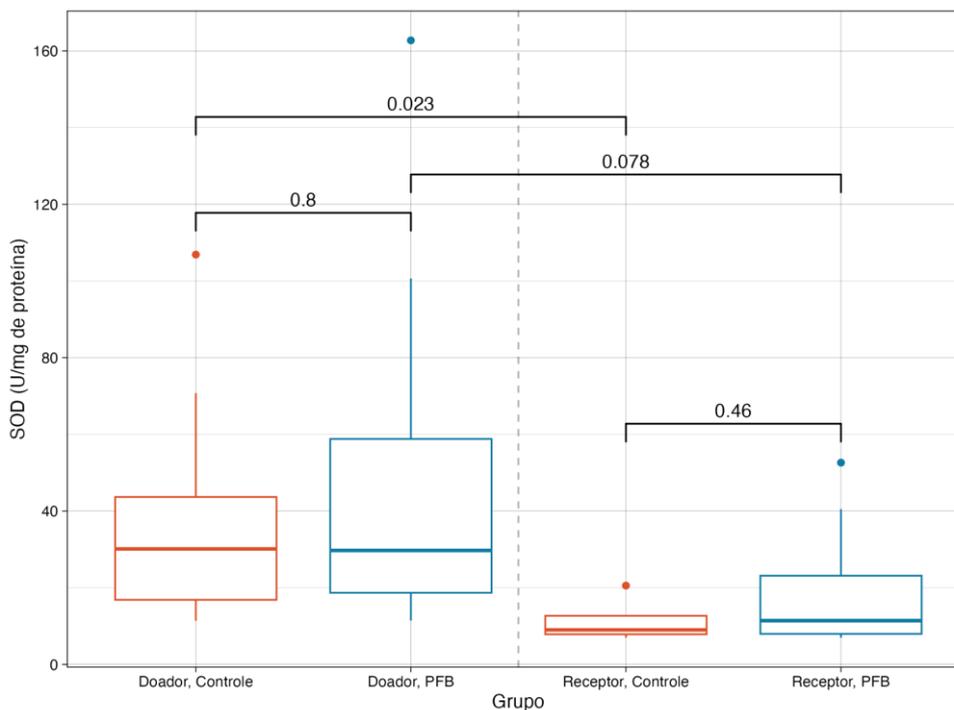
Figura 17 - Gráficos com intervalos de Catalase

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da atividade da catalase (CAT) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, não houve diferença estatisticamente significativa na atividade da catalase entre os grupos ($p = 0,721$). No Grupo-Receptor, a atividade da catalase foi significativamente menor no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Control ($p < 0,001$). A atividade de catalase pré e pós-transplante manteve-se sem diferença significativa (Controle: $p = 0,313$ e PFB: $p = 0,250$). As distribuições são descritas por medianas e quartis. Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.5.8 Superóxido dismutase

Comparando a atividade da superóxido dismutase (SOD, U/mg de proteína) entre os grupos Controle e tratados com perfluorooctil-bromido, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, tanto no doador ($p = 0,798$) quanto no receptor ($p = 0,462$). Numa análise intragrupo, houve redução da SOD após o transplante tanto no Grupo-Control (30 para 9; $p = 0,023$) como no Grupo-PFB, porém sem diferença estatisticamente significativa neste último (30 para 11; $p = 0,078$ - Figura 18).

Figura 18 - Gráficos com os intervalos de SOD

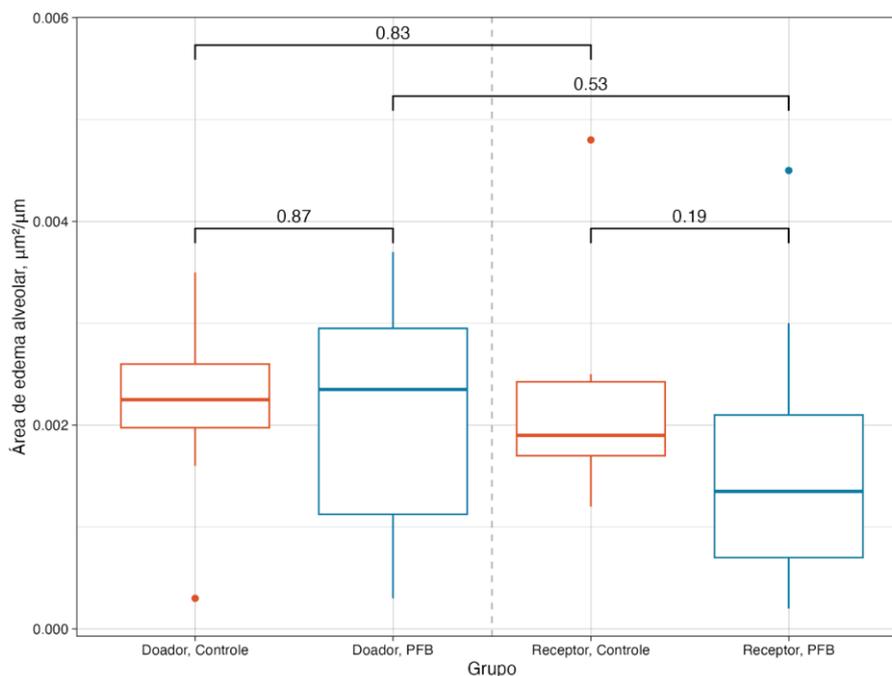
Fonte: Elaboração própria.

Nota: Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos grupos Doador e Receptor após transplante pulmonar em modelo animal. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Doador: $p = 0,798$; Receptor: $p = 0,462$). Numa análise intragrupo, houve redução da SOD após o transplante tanto no Grupo-Controle ($p = 0,023$) como no Grupo-PFB, porém sem diferença estatisticamente significativa neste último ($p = 0,078$). Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.6 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

5.6.1 Edema alveolar

Por fim, a avaliação do edema alveolar não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em doadores ou receptores, sugerindo que o PFB não impactou diretamente esses parâmetros. Numa análise intragrupo, não houve diferença significativa na porcentagem de área com edema alveolar após o transplante em nenhum grupo (Controle: $p = 0,833$; PFB: $p = 0,528$ - Figura 19).

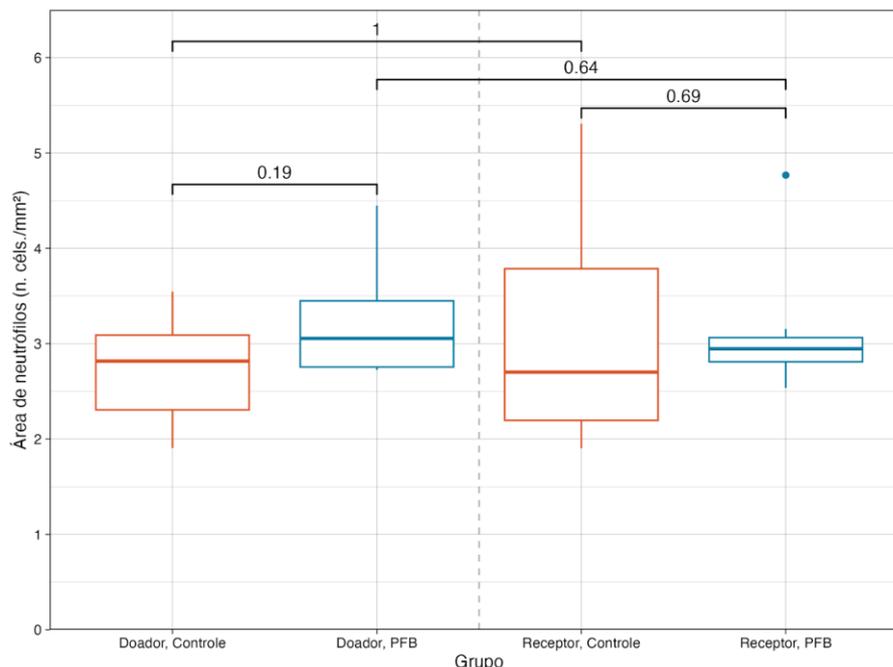
Figura 19 - Gráficos com os intervalos de área de edema alveolar

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da área de edema alveolar ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos tanto no doador ($p = 0,875$) quanto no receptor ($p = 0,188$), assim como, no Controle ($p = 0,833$) e PFB ($p = 0,528$). Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.6.2 Área de neutrófilos

Da mesma forma, a área de neutrófilos não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em doadores ou receptores. A área total de neutrófilos também não apresentou diferença significativa entre doador e receptor em nenhum dos grupos (Controle: $p > 0,999$; PFB: $p = 0,641$ - Figura 20).

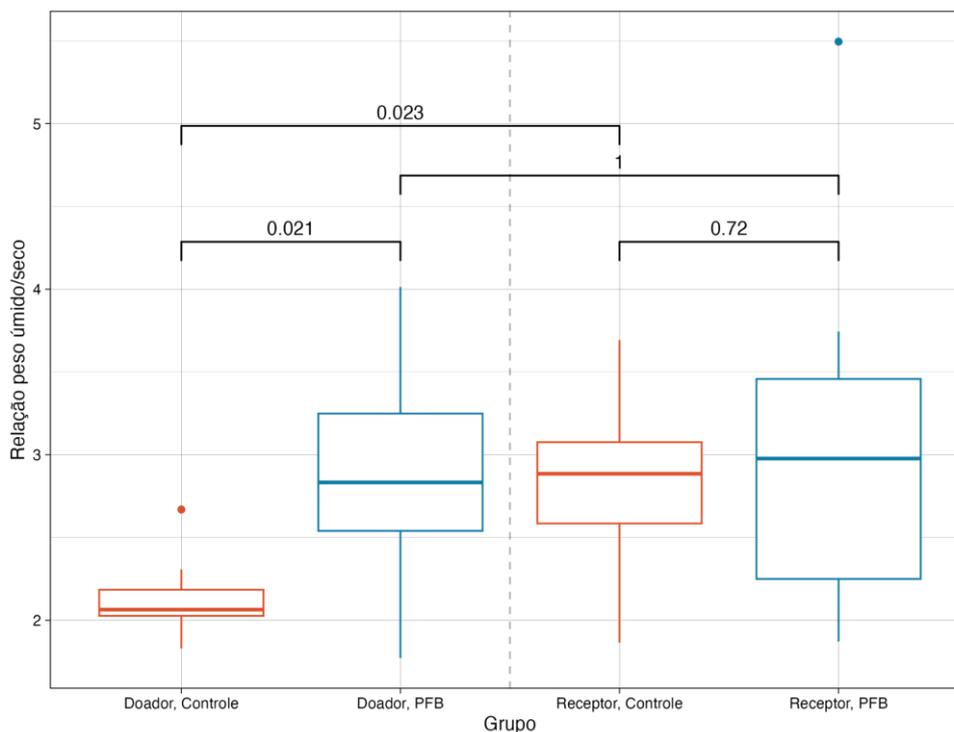
Figura 20 - Gráficos com os intervalos da área de neutrófilos

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da densidade de neutrófilos (número de células/mm²) entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. Não houve diferença estatisticamente significativa na área de infiltrado neutrofílico entre os grupos, tanto no doador ($p = 0,195$) quanto no receptor ($p = 0,694$). Também não apresentou diferença significativa entre doador e receptor em nenhum dos grupos (Controle: $p > 0,999$; PFB: $p = 0,641$). Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

5.7 RELAÇÃO PESO ÚMIDO/PESO SECO

Em relação aos doadores, no Grupo-Controle, a relação peso úmido/peso seco teve uma mediana de 2,06 [quartis: 2,01, 2,23], enquanto no Grupo-PFB este valor foi significativamente maior, com valor de 2,83 [2,54, 3,43] ($p = 0,021$). No receptor, a relação peso úmido/peso seco foi de 2,89 [2,39, 3,20] no Grupo-Controle e 2,98 [2,17, 3,55] no Grupo-PFB, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,721$). Quando analisado o efeito do transplante, no Grupo-Controle, houve aumento significativo da relação peso úmido/peso seco entre doador e receptor (2,06 para 2,89; $p = 0,023$). No Grupo-PFB, essa variação não foi significativa (2,83 para 2,98; $p > 0,999$ - Figura 21).

Figura 21 - Relação peso úmido/peso seco

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Comparação da relação peso úmido/seco entre os grupos controle (vermelho) e tratados com perfluorooctil-bromido (PFB, azul) nos doadores e receptores de pulmão. No Grupo-Doador, a relação peso úmido/seco foi significativamente maior no Grupo-PFB em comparação ao Grupo-Controle ($p = 0,021$). No Grupo-Receptor, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,721$). Quando analisado o efeito do transplante, no Grupo-Controle, houve aumento significativo da relação peso úmido/peso seco entre doador e receptor ($p = 0,023$). No Grupo-PFB, essa variação não foi significativa ($p > 0,999$). Valores de p obtidos por meio do teste de Mann-Whitney.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 DOADOR VS. RECEPTOR

Este estudo apresenta um modelo inovador para a aplicação da ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido (PFB) em pequenos animais, com o objetivo de avaliar sua viabilidade e os impactos fisiológicos no transplante pulmonar após isquemia fria.

Os resultados obtidos indicam que o modelo é tecnicamente exequível e reprodutível, mesmo considerando os desafios associados ao aumento transitório da pressão arterial após a instilação do PFB nos doadores, provavelmente causado por hipoxemia temporária. Nos doadores, aos 20 minutos após a administração do PFB, foi identificada uma PAM mais elevada no Grupo-PFB ($p = 0,009$), sugerindo um impacto hemodinâmico inicial. Nos demais momentos, essa diferença não se manteve (valor p global = 0,254), indicando que o efeito do PFB na PAM dos doadores foi transitório. Nos receptores, o Grupo-PFB apresentou pressão arterial mais baixa ao longo do experimento (valor p global = 0,032), especialmente em momentos iniciais ($p = 0,030$ no tempo 0), o que pode estar relacionado a um impacto na estabilidade hemodinâmica pós-transplante^{1,2}. Apesar desta diferença ao longo do tempo, a intervenção não produziu efeitos consistentes durante o período estudado, sem inviabilizar as análises e a manutenção do animal vivo.

Não houve diferença estatística da pO_2 arterial nos grupos tratados com PFB, tanto nos doadores quanto nos receptores. Esse resultado contrasta com as propriedades conhecidas do perfluorooctil-bromido, como a capacidade de recrutar alvéolos colapsados e melhorar a relação ventilação/perfusão, o que, teoricamente, poderia favorecer a oxigenação. A redução da pO_2 arterial após o transplante observada em ambos os grupos indica comprometimento funcional na fase de reperfusão. Porém, ao mesmo tempo, evidencia que a ventilação líquida parcial com PFB não foi deletéria à função pulmonar, sendo uma técnica exequível em modelos de pequenos animais.

A resistência respiratória foi maior nos doadores que receberam PFB, e a complacência foi significativamente reduzida ($p < 0,001$), refletindo o efeito imediato do líquido sobre a mecânica pulmonar. Nos receptores, observou-se tendência à redução da resistência e ao aumento da complacência no Grupo-PFB ($p = 0,083$), sugerindo que o uso prévio da VLP favoreceu a preservação da mecânica pulmonar do enxerto. Esses achados indicam que a injúria por isquemia e reperfusão impacta negativamente na função pulmonar e que a ventilação líquida nos doadores pode atenuar parte desse efeito. O aumento da resistência e a redução da

complacência observadas nos receptores do Grupo-Controlle refletem maior rigidez pulmonar e possível colapso alveolar, enquanto a melhora desses parâmetros no Grupo-PFB sugere um efeito benéfico da técnica na preservação da ventilação.

A análise dos marcadores inflamatórios demonstrou aumento expressivo da IL-6 nos doadores tratados com PFB, evidenciando aumento da resposta inflamatória. A ausência de diferença da IL-6 nos receptores (Controlle vs. PFB) pode indicar modulação dessa resposta. Os demais marcadores, como IL-1 β , IL-10 e TNF- α , não apresentaram diferença significativa entre os grupos tanto nos doadores como nos receptores.

A avaliação dos marcadores de estresse oxidativo permitiu uma análise detalhada do impacto do transplante e da ventilação líquida sobre o equilíbrio redox pulmonar. O malondialdeído (MDA), marcador clássico de peroxidação lipídica, reflete o dano oxidativo às membranas celulares. A avaliação do estresse oxidativo também revelou diferenças entre doadores e receptores. O MDA e as EROs aumentaram nos doadores do Grupo-PFB, indicando maior peroxidação lipídica após a instilação do líquido e um estado oxidativo exacerbado. Nos receptores, tanto os níveis de MDA quanto das EROs não diferiram entre os grupos, sugerindo modulação do estresse oxidativo.

Em relação à catalase (CAT), enzima antioxidante responsável pela degradação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, observou-se uma redução de sua atividade nos receptores do Grupo-PFB. Essa redução pode estar relacionada ao consumo elevado da enzima como resposta ao aumento na produção de radicais livres^{1,16}. Esses efeitos adversos, embora não invalidem os benefícios evidenciados, como o fato de que não houve piora dos marcadores inflamatórios nos receptores tratados, destacam a necessidade de intervenções complementares, como a utilização de antioxidantes no protocolo de preservação pulmonar^{9,17}.

Yoshida et al. destacam o potencial do PFB em preservar a histoarquitetura alveolar e reduzir a disfunção do enxerto em modelos experimentais de isquemia e reperfusão, especialmente em doadores marginalmente aceitos^{18,19}. A análise histopatológica revelou que o uso do PFB não comprometeu a integridade histológica do pulmão transplantado. Os achados são consistentes com estudos que avaliaram dinâmicas similares de líquidos pulmonares em modelos experimentais, consolidando a segurança e a viabilidade do uso do PFB. No entanto, é necessário um equilíbrio cuidadoso entre os efeitos benéficos e os riscos associados ao estresse oxidativo e inflamatório, e o pouco período de observação do presente estudo, considerando o curto período de reperfusão.

A relação peso úmido/peso seco foi maior nos doadores que receberam PFB ($p = 0,021$). A elevação significativa desta relação no Grupo-PFB sugere não somente a presença de edema

pulmonar, mas também a presença de PFB ao fim da primeira parte do experimento, apesar de sua evaporação ao longo do tempo. Nos receptores, porém, não houve diferença entre os grupos, e a estabilidade dessa relação no Grupo-PFB sugere que os efeitos do líquido foram transitórios e não culminaram em congestão tecidual após o transplante.

A análise comparativa entre doadores e receptores demonstrou que a ventilação líquida parcial com PFB é uma técnica viável e segura em modelos experimentais de transplante pulmonar, sendo capaz de preservar parâmetros funcionais e histológicos do enxerto mesmo após isquemia fria. Porém, é necessário analisar os efeitos do transplante pulmonar em cada grupo, a fim de corroborar os benefícios da ventilação líquida parcial com PFB e distinguir seus efeitos diretos relacionados ao processo de isquemia e reperfusão.

6.2 CONTROLE VS. PFB

Observamos redução significativa da pO_2 arterial após o transplante pulmonar, tanto no Grupo-Controle como no Grupo-PFB, indicando comprometimento da função pulmonar na fase de reperfusão, indiferente do uso ou não do PFB.

Observou-se, após o transplante, que a resistência respiratória foi significativamente menor nos pulmões ventilados com PFB. De uma maneira análoga, a complacência pulmonar seguiu o mesmo efeito benéfico, ou seja, foi significativamente maior no Grupo-PFB. Esses achados são consistentes com Forgiarini Jr. et al., que mostraram melhora da viabilidade funcional do enxerto com PFC, incluindo parâmetros de complacência e resistência¹⁶. Embora o PFB altere temporariamente a mecânica nos doadores, seu uso prévio parece proteger o pulmão transplantado. A VLP com PFB mostrou-se promissora para preservar a elasticidade pulmonar e prevenir a rigidez observada no Grupo-Controle.

Há uma discussão acerca da dose de PFB a ser utilizada na VLP. Ricard et al. demonstraram que a dose adequada de PFB durante a VLP resultou em melhora da complacência e menor resistência pulmonar em modelos experimentais de lesão pulmonar induzida. A dosagem é crítica na VLP para minimizar lesões pulmonares associadas à ventilação mecânica. A VLP com PFB a 7 ml/kg parece ser mais eficaz do que doses maiores devido à melhor distribuição do volume corrente e à redução do risco de hiperdistensão alveolar. O mesmo autor demonstrou que volumes moderados de PFB garantem um equilíbrio entre recrutamento alveolar e preservação da complacência pulmonar, evitando o colapso dos alvéolos sem gerar estresse excessivo. Além disso, doses maiores podem interferir na função do surfactante natural, dificultando a transição para a ventilação convencional, enquanto

volumes menores mantêm a tensão superficial dos alvéolos de forma mais estável. Outro benefício do uso de 7 ml/kg está na melhora das alterações microvasculares, já que volumes excessivos podem comprimir os vasos pulmonares, comprometendo a distribuição do fluxo sanguíneo e prejudicando a oxigenação²⁰. Da mesma forma, volumes muito elevados podem dificultar a eliminação de CO₂, pois uma camada mais espessa de líquido nos alvéolos cria uma barreira à difusão do gás, aumentando o risco de retenção de dióxido de carbono. Com isso, a utilização de 7 ml/kg se mostra mais eficiente para manter a troca gasosa sem comprometer a mecânica ventilatória, minimizando complicações e tornando a VLP com PFB uma estratégia mais segura e eficaz em modelos de lesão pulmonar. Os resultados apresentados neste estudo sugerem que a dose escolhida está adequada ao modelo experimental.

Os mecanismos fisiológicos que sustentam os benefícios do PFB estão diretamente relacionados às suas propriedades físico-químicas únicas. A alta solubilidade de oxigênio do PFB favorece o transporte de gases respiratórios até os alvéolos, enquanto sua capacidade de reduzir a tensão superficial alveolar facilita a expansão pulmonar e previne o colapso alveolar em áreas comprometidas^{7,8}. Além disso, o PFB atua como uma forma de pressão expiratória positiva (Peep) líquida, promovendo a manutenção da abertura alveolar em regiões dependentes do pulmão e reduzindo significativamente o shunt pulmonar, um problema frequentemente observado em casos de lesão pulmonar induzida por isquemia e reperfusão⁹. Esses mecanismos explicam, em grande parte, a tendência à melhora na mecânica ventilatória observadas no grupo tratado com PFB.

Em relação à resposta inflamatória, observou-se um aumento significativo nos níveis de IL-6 no Grupo-Controle ($p = 0,008$), aumento não observado nos receptores que receberam pulmão com PFB. Este dado evidencia que a ventilação líquida com PFB atenuou a produção de IL-6, indicando modulação da inflamação pulmonar. Esses achados são compatíveis com os resultados descritos por Croce et al., que relataram uma redução de IL-6 em pacientes com lesão pulmonar submetidos à ventilação líquida parcial, associada a uma menor ativação da inflamação alveolar. No mesmo estudo, a menor expressão de IL-10 foi interpretada como consequência de uma inflamação basal reduzida, que, por sua vez, diminuiria a necessidade de contrarregulação humoral⁷¹. O aumento da IL-10 no Grupo-Controle após o transplante pode representar um mecanismo compensatório diante da resposta inflamatória exacerbada induzida pela lesão de isquemia e reperfusão, seguindo o aumento da IL-6. No Grupo-PFB após o transplante, tal qual a manutenção dos níveis de IL-6, os valores semelhantes do IL-10 podem estar relacionados à atenuação da inflamação primária, reduzindo a necessidade de contrarregulação humoral. Não se observaram diferenças significativas nos demais marcadores

inflamatórios como IL-1 β e TNF- α , diferente de Wei et al., que evidenciaram redução do TNF- α em modelo de lesão pulmonar aguda em cães submetidos à ventilação líquida parcial⁷².

O Grupo-Controle apresentou aumento significativo do MDA após o transplante ($p = 0,008$), enquanto o Grupo-PFB manteve níveis estáveis, sugerindo efeito protetor contra a peroxidação lipídica. Esses achados estão em concordância com o estudo experimental conduzido por Rotta et al., no qual coelhos submetidos à lesão pulmonar aguda induzida por endotoxina e tratados com PFB apresentaram concentrações significativamente menores de MDA, quando comparados à ventilação convencional. No referido estudo, os autores demonstraram que a ventilação líquida parcial foi capaz de atenuar o estresse oxidativo sem interferência direta do perfluorocarbono nos ensaios bioquímicos, sugerindo um efeito protetor real sobre os tecidos pulmonares. De forma semelhante, em nosso modelo de transplante pulmonar com isquemia e reperfusão, a ausência de elevação significativa de MDA no Grupo-PFB reforça a hipótese de que a ventilação líquida exerce um papel modulador sobre o dano oxidativo, possivelmente ao reduzir a formação de radicais livres ou preservar a integridade das membranas celulares durante o processo de reperfusão⁷³.

As espécies reativas de oxigênio (EROs), moléculas altamente reativas derivadas do oxigênio, como o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio, indicam também um estado oxidativo exacerbado quando aumentadas. Neste estudo, foi identificado aumento significativo das EROs no sobrenadante após o transplante em ambos os grupos, evidenciando a ativação de processos oxidativos durante a reperfusão. Esses achados diferem dos resultados obtidos por Smith et al., que demonstraram uma redução significativa na produção de EROs por macrófagos alveolares expostos *in vitro* ao PFB. No referido estudo, a exposição direta das células ao PFC resultou em menor liberação de peróxido de hidrogênio e redução da atividade de quimioluminescência, sugerindo uma inibição da ativação oxidativa celular. Dessa forma, é possível que, apesar de um efeito modulador do PFC sobre a resposta oxidativa, o grau de agressão tecidual e a complexidade do microambiente *in vivo* tenha superado sua capacidade de inibir completamente a geração de EROs⁷⁴.

A atividade da catalase não apresentou alterações significativas após o transplante entre os grupos que receberam pulmão com ou sem PFB, sugerindo resposta variável ou limitação metodológica na detecção da ação do PFB nesse parâmetro. A superóxido dismutase (SOD), por sua vez, atua na conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, sendo, também, essencial na defesa antioxidante inicial. Após a reperfusão, os níveis de SOD diminuíram significativamente no Grupo-Controle, sugerindo prejuízo à capacidade antioxidante pulmonar. No Grupo-PFB, entretanto, os níveis foram preservados, o que pode indicar uma proteção

conferida pela ventilação líquida parcial. Esse efeito protetor está de acordo com relatos da literatura que associam o uso de perfluorocarbonos à preservação da atividade de enzimas antioxidantes⁷⁵.

Por fim, a preservação da histoarquitetura pulmonar observada por meio do edema alveolar e área de neutrófilos não apresentaram diferença entre os grupos Controle e PFB, o que reforça a segurança do PFB. Quando analisados os efeitos do transplante, o aumento da relação peso úmido/peso seco no Grupo-Controle indica acúmulo de líquido e formação de edema pulmonar. A estabilidade dessa relação no Grupo-PFB sugere efeito protetor da ventilação líquida contra a congestão tecidual, reforçando sua ação benéfica na preservação da integridade pulmonar. Este achado indica que os efeitos do PFB observados no doador podem ser transitórios e resolvidos após o transplante, possivelmente devido à evaporação parcial do PFB, sem a necessidade de doses complementares, como sugerido por Jeng et al., o que facilitaria o uso clínico^{21,22}. Esses resultados são consistentes com Forgiarini Junior et al., que avaliaram dinâmicas similares de líquidos pulmonares em modelos experimentais, consolidando a segurança e a viabilidade do uso do PFB no contexto investigado¹⁶.

Os efeitos protetores da VLP são mais evidentes quando aplicada antes da isquemia ou durante a preservação do enxerto, como nos estudos de Yoshida e Forgiarini. Os dados apresentados consolidam o PFB como uma estratégia promissora para otimizar a função do enxerto pulmonar em situações de lesão por isquemia e reperfusão, especialmente em doadores marginalmente aceitos. Estratégias futuras devem explorar intervenções adjuvantes, como o uso de antioxidantes como sugerido por Cypel et al.^{9,17} e a perfusão pulmonar normotérmica *ex vivo*^{9,44} para fim de mitigar os efeitos adversos associados ao PFB, além de ajustes no protocolo de administração²³.

Os dados indicam que o transplante pulmonar resultou em aumento significativo da resposta inflamatória e do estresse oxidativo nos animais do Grupo-Controle, conforme evidenciado pelos níveis elevados de IL-6 e MDA nos receptores. Por outro lado, a ausência de diferenças significativas dessas variáveis no grupo tratado com PFB sugere um efeito protetor da ventilação líquida parcial com perfluoroetil-bromido. Este efeito pode estar relacionado à capacidade do PFB em modular a resposta inflamatória e reduzir a peroxidação lipídica, minimizando, assim, os danos induzidos pela isquemia e reperfusão durante o transplante pulmonar. Assim como Becerra et al. demonstraram que a ventilação líquida com PFB reduz a resposta inflamatória em modelos de lesão por isquemia e reperfusão, em nosso estudo, esses achados reforçam o potencial da VLP com PFB em promover uma recuperação funcional, mesmo diante das adversidades associadas à isquemia e reperfusão^{5,6,44}.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Primeiramente, trata-se de um modelo experimental em pequenos animais, o que impõe restrições à extrapolação direta para a prática clínica em humanos. Apesar da semelhança fisiológica dos ratos da linhagem Lewis com modelos de transplante, as respostas inflamatórias, hemodinâmicas e oxidativas podem divergir em organismos maiores e mais complexos. Ao mesmo tempo, não se pode ignorar a dificuldade técnica da execução desse modelo de transplante em pequenos animais, exigindo cuidados minuciosos e acurácia no método.

Em segundo lugar, o número reduzido de animais em cada grupo pode limitar o poder estatístico para detecção de diferenças sutis entre os grupos experimentais. Embora, os achados tenham mostrado significância em algumas variáveis, como a mecânica respiratória e os marcadores inflamatórios, outras tendências observadas não atingiram significância estatística, possivelmente devido ao tamanho amostral.

Outro ponto importante pode estar relacionado às limitações do modelo experimental, como o transplante unilateral, em que o pulmão nativo contralateral permanece responsável por parte da oxigenação. No entanto, esse mesmo fator estava presente no grupo controle. Estudos posteriores, conduzidos por nosso grupo⁵⁹, nos quais apenas o pulmão transplantado foi ventilado, indicam que esse modelo pode ser mais adequado para avaliar isoladamente a função do enxerto e os efeitos do PFB, reduzindo este viés.

Por fim, a metodologia empregada para mensuração dos marcadores inflamatórios e oxidativos, embora sensível, foi limitada à análise pontual dos tecidos pulmonares, não abrangendo o perfil plasmático sistêmico dos animais, o que poderia fornecer uma visão mais ampla da resposta inflamatória geral ao procedimento.

Essas limitações, embora não invalidem os achados, reforçam a necessidade de estudos complementares com amostras maiores, modelos animais de maior porte, variações nos protocolos de PFB com doses diferentes ou com associação a antioxidantes e períodos mais longos de acompanhamento pós-transplante para validação dos resultados observados.

8 CONCLUSÕES

8 CONCLUSÕES

Este estudo atingiu seu objetivo geral de analisar os efeitos da ventilação líquida parcial com perfluorooctil-bromido (PFB) na preservação pulmonar em modelo experimental de transplante pulmonar unilateral em ratos, demonstrando achados funcionais relevantes.

Em relação aos objetivos específicos:

- A avaliação dos parâmetros hemodinâmicos, gasométricos e mecânicos indicou que o PFB promoveu melhora significativa da mecânica respiratória nos receptores, com aumento da complacência e redução da resistência do sistema respiratório. O uso do PFB não piorou a troca gasosa nem o comportamento hemodinâmico entre doadores e receptores, tampouco após o transplante entre o Grupo-Controle e o Grupo-PFB;
- Após o transplante, observamos que o PFB não aumentou os marcadores inflamatórios e, com exceção das EROs, também não aumentou os marcadores de estresse oxidativo, indicando um efeito protetor da ventilação líquida nos enxertos. Em contrapartida, os níveis de TNF- α e IL-1 β não diferiram entre os grupos, reforçando que a resposta inflamatória foi seletiva e não generalizada;
- Quanto à histoarquitetura pulmonar, não foram observadas diferenças significativas e o uso do PFB reduziu o edema pulmonar após o transplante, a partir da análise da relação do peso úmido/peso seco.

Portanto, o PFB representa uma estratégia promissora de preservação pulmonar em transplantes, especialmente em doadores com critérios expandidos. No entanto, são necessários estudos adicionais para otimizar seu uso, incluindo ajustes na dose, associação com antioxidantes e avaliação de desfechos em longo prazo, visando validar sua segurança e eficácia em contextos translacionais.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Charman SC, Sharples LD, McNeil KD, Wallwork J. Assessment of survival benefit after lung transplantation by patient diagnosis. *J Heart Lung Transplant*. 2002 Feb;21(2):226-32. doi: 10.1016/s1053-2498(01)00352-7.
2. Valapour M, Lehr CJ, Schladt DP, Smith JM, Goff R, Mupfudze TG, Swanner K, Gauntt K, Snyder JJ. OPTN/SRTR 2021 Annual Data Report: Lung. *Am J Transplant*. 2023 Feb;23(2 Suppl 1):S379-S442. doi: 10.1016/j.ajt.2023.02.009.
3. Wilkes DS. A breath of fresh air for lung transplant recipients. *Sci Transl Med*. 2009 Oct 28;1(4):4ps5. doi: 10.1126/scitranslmed.3000380.
4. Cypel M, Kaneda H, Yeung JC, Anraku M, Yasufuku K, de Perrot M, Pierre A, Waddell TK, Liu M, Keshavjee S. Increased levels of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in donor lungs rejected for transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2011 Apr;30(4):452-9. doi: 10.1016/j.healun.2010.11.012.
5. Frost AE. Donor criteria and evaluation. *Clin Chest Med*. 1997 Jun;18(2):231-7. doi: 10.1016/s0272-5231(05)70374-9.
6. Pêgo-Fernandes PM, Samano MN, Fiorelli AI, Fernandes LM, Camargo SM, Xavier AM, Sarmento PA, Bernardo WM, de Castro MC, Jatene FB. Recommendations for the use of extended criteria donors in lung transplantation. *Transplant Proc*. 2011 Jan-Feb;43(1):216-9. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.12.050.
7. Fernandes PM, Samano MN, Junqueira JJ, Waisberg DR, Noletto GS, Jatene FB. Perfil do doador de pulmão disponibilizado no estado de São Paulo, Brasil, em 2006 [Lung donor profile in the State of São Paulo, Brazil, in 2006]. *J Bras Pneumol*. 2008 Jul;34(7):497-505. doi: 10.1590/s1806-37132008000700010.
8. Cypel M, Sato M, Yildirim E, Karolak W, Chen F, Yeung J, Boasquevisque C, Leist V, Singer LG, Yasufuku K, Deperrot M, Waddell TK, Keshavjee S, Pierre A. Initial experience with lung donation after cardiocirculatory death in Canada. *J Heart Lung Transplant*. 2009 Aug;28(8):753-8. doi: 10.1016/j.healun.2009.05.009.
9. Cypel M, Rubacha M, Yeung J, Hirayama S, Torbicki K, Madonik M, Fischer S, Hwang D, Pierre A, Waddell TK, de Perrot M, Liu M, Keshavjee S. Normothermic ex vivo perfusion prevents lung injury compared to extended cold preservation for transplantation. *Am J Transplant*. 2009 Oct;9(10):2262-9. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02775.x.
10. Cypel M, Yeung JC, Liu M, Anraku M, Chen F, Karolak W, Sato M, Laratta J, Azad S, Madonik M, Chow CW, Chaparro C, Hutcheon M, Singer LG, Slutsky AS, Yasufuku K, de Perrot M, Pierre AF, Waddell TK, Keshavjee S. Normothermic ex vivo lung perfusion in clinical lung transplantation. *N Engl J Med*. 2011 Apr 14;364(15):1431-40. doi: 10.1056/NEJMoa1014597.

11. Cypel M, Yeung JC, Keshavjee S. Novel approaches to expanding the lung donor pool: donation after cardiac death and ex vivo conditioning. *Clin Chest Med.* 2011 Jun;32(2):233-44. doi: 10.1016/j.ccm.2011.02.003.
12. Moore FA, McKinley BA, Moore EE. The next generation in shock resuscitation. *Lancet.* 2004 Jun 12;363(9425):1988-96. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16415-5.
13. Noble WH. Early changes in lung water after haemorrhagic shock in pigs and dogs. *Can Anaesth Soc J.* 1975 Jan;22(1):39-49. doi: 10.1007/BF03004817.
14. Steen S, Liao Q, Wierup PN, Bolys R, Pierre L, Sjöberg T. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg.* 2003 Jul;76(1):244-52; discussion 252. doi: 10.1016/s0003-4975(03)00191-7.
15. Ingemansson R, Eyjolfsson A, Mared L, Pierre L, Algotsson L, Ekmehag B, Gustafsson R, Johnsson P, Koul B, Lindstedt S, Lührs C, Sjöberg T, Steen S. Clinical transplantation of initially rejected donor lungs after reconditioning ex vivo. *Ann Thorac Surg.* 2009 Jan;87(1):255-60. doi: 10.1016/j.athoracsur.2008.09.049.
16. Forgiarini Junior LA, Holand AR, Forgiarini LF, da Rosa DP, Marroni NA, Cardoso PF, Andrade CF. Endobronchial perfluorocarbon reduces inflammatory activity before and after lung transplantation in an animal experimental model. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:193484. doi: 10.1155/2013/193484.
17. Yoshida Y, Hatayama N, Sekino H, Seki K. Heterotopic transplant of an isolated rat heart preserved for 72 h in perfluorocarbon with CO₂. *Cell Transplant.* 2008;17(1-2):83-9. doi: 10.3727/000000008783907017.
18. Yoshida S, Sekine Y, Shinozuka N, Satoh J, Yasufuku K, Iwata T, Saitoh Y, Fujisawa T. The efficacy of partial liquid ventilation in lung protection during hypotension and cardiac arrest: preliminary study of lung transplantation using non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant.* 2005 Jun;24(6):723-9. doi: 10.1016/j.healun.2004.03.019.
19. Kaisers U, Kelly KP, Busch T. Liquid ventilation. *Br J Anaesth.* 2003 Jul;91(1):143-51. doi: 10.1093/bja/aeg147.
20. Ricard JD, Iserin F, Dreyfuss D, Saumon G. Perflubron dosing affects ventilator-induced lung injury in rats with previous lung injury. *Crit Care Med.* 2007 Feb;35(2):561-7. doi: 10.1097/01.CCM.0000253396.86212.8C.
21. Jeng MJ, Oliver R, Wolfson MR, Shaffer TH. Partial liquid ventilation: Effect of initial dose and redosing strategy in acute lung injury. *Pediatr Crit Care Med.* 2002 Apr;3(2):163-70. doi: 10.1097/00130478-200204000-00014.
22. Jeng MJ, Yang SS, Hwang B, Wolfson MR, Shaffer TH. Effects of perfluorochemical evaporative properties on oxygenation during partial liquid ventilation. *Pediatr Int.* 2006 Dec;48(6):608-15. doi: 10.1111/j.1442-200X.2006.02287.x.
23. Kelly KP, Stenson BJ, Drummond GB. Effect of partial liquid ventilation and nebulized perfluorocarbon on CT lung density distribution: randomized controlled study of experimental lung injury. *Br J Anaesth.* 2005 May;94(5):671-4. doi: 10.1093/bja/aei090.

24. Bos S, Vos R, Van Raemdonck DE, Verleden GM. Survival in adult lung transplantation: where are we in 2020? *Curr Opin Organ Transplant*. 2020 Jun;25(3):268-73. doi: 10.1097/MOT.0000000000000753.
25. Martin AK, Renew JR, Jayaraman AL, Murray AW, Fritz AV, Ramakrishna H. Analysis of outcomes in lung transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2019 May;33(5):1455-66. doi: 10.1053/j.jvca.2018.06.014.
26. Meyer KC. Recent advances in lung transplantation. *F1000Res*. 2018 Oct 23;7:F1000 Faculty Rev-1684. doi: 10.12688/f1000research.15393.1.
27. Carrel A. The surgery of blood vessels. *Johns Hopkins Hosp Bull*. 1907;18:39-44.
28. Venuta F, Van Raemdonck D. History of lung transplantation. *J Thorac Dis*. 2017 Dec;9(12):5458-5471. doi: 10.21037/jtd.2017.11.84.
29. Shoja MM, Tubbs RS, Ardalan MR, Loukas M, Phagava H, Cohen-Gadol AA. A testimony to the history of heart and lung transplantation: English translation of Demikhov's paper, "Transplantation of the Heart, Lungs and other Organs". *Int J Cardiol*. 2010 Sep 3;143(3):230-4. doi: 10.1016/j.ijcard.2010.02.078.
30. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML Jr, Walker GR Jr. Lung homotransplantation in man. *JAMA*. 1963 Dec 21;186:1065-74. doi: 10.1001/jama.1963.63710120001010.
31. Toronto Lung Transplant Group. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 1986 May 1;314(18):1140-5. doi: 10.1056/NEJM198605013141802.
32. Kosachenco C. Transplante pulmonar no Brasil: desafios e perspectivas. *Rev Assoc Med Bras*. 2019;65(6):797-803. doi:10.1590/1806-9282.65.6.797.
33. Snell GI, Yusen RD, Weill D, Strueber M, Garrity E, Reed A, Pelaez A, Whelan TP, Perch M, Bag R, Budev M, Corris PA, Crespo MM, Witt C, Cantu E, Christie JD. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction, part I: Definition and grading-A 2016 Consensus Group statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2017 Oct;36(10):1097-103. doi: 10.1016/j.healun.2017.07.021.
34. Ruiz LM, de Oliveira Braga KA, Nepomuceno NA, Correia AT, Ribeiro de Carvalho GH, Vilela VS, Dolhnikoff M, Pêgo-Fernandes PM. Effect of hypertonic saline solution on the ventilatory mechanics of lungs donated after brain death. *J Surg Res*. 2024 Jun;298:109-18. doi: 10.1016/j.jss.2024.02.008.
35. Santana Rodríguez N, Llontop Santisteban P, López García A, Clavo B, Ponce González MÁ, Rodríguez Bermejo JC, García Castellano JM, García Herrera R, Zerecero K, Ruíz Caballero JA, Brito Godoy Y, Varela De Ugarte A. Technical modifications of the orthotopic lung transplantation model in rats with brain-dead donors. *Arch Bronconeumol*. 2011 Oct;47(10):488-94. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2011.05.003.

36. Andrade CF, Martins LK, Tonietto TA, Koefender C, Anflor LC Jr, da Silva NB, Felicetti JC, Camargo Jde J, Fortis EA, Cardoso PF. Partial liquid ventilation with perfluorodecalin following unilateral canine lung allotransplantation in non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant*. 2004 Feb;23(2):242-51. doi: 10.1016/S1053-2498(03)00105-0.
37. Andrade CF, Forgiarini Jr. LA, Cardoso PFG. Ventilação líquida: da ficção à realidade. *Rev Ciênc Hoje*. 2009;44(260):70-1.
38. Andrade CF, Fortis EAF, Cardoso PFG. Ventilação líquida: revisão da literatura. *J Pneumologia*. 2002;28(6):351-61. doi: 10.1590/S0102-35862002000600011.
39. Araujo LF, Holand AR, Paludo Ade O, Silva EF, Forgiarini LA, Forgiarini LF, Barbachan E Silva M, Andrade CF. Effect of the systemic administration of methylprednisolone on the lungs of brain-dead donor rats undergoing pulmonary transplantation. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014 Feb;69(2):128-33. doi: 10.6061/clinics/2014(02)09.
40. Itano H, Aoe M, Ichiba S, Yamashita M, Date H, Andou A, Shimizu N. Partial liquid ventilation for acute allograft dysfunction after canine lung transplantation. *Ann Thorac Surg*. 1999 Feb;67(2):332-9. doi: 10.1016/s0003-4975(98)01136-9.
41. Rüdiger M, Gregor T, Burkhardt W, Proquitté H, Wauer RR, Schmalisch G. Perfluorocarbon species and nebulizer type influence aerosolization rate and particle size of perfluorocarbon aerosol. *J Crit Care*. 2004 Mar;19(1):42-7. doi: 10.1016/j.jcrc.2004.02.008.
42. Jung R, Pendland SL, Martin SJ. Effect of perfluorooctyl bromide on bacterial growth. *Chemotherapy*. 2003 May;49(1-2):1-7. doi: 10.1159/000069772.
43. Scholz AW, Eberle B, Heussel CP, David M, Schmittner MD, Quintel M, Schreiber LM, Weiler N. Ventilation-perfusion ratio in perflubron during partial liquid ventilation. *Anesth Analg*. 2010 Jun 1;110(6):1661-8. doi: 10.1213/ANE.0b013e3181d3e1d5.
44. Becerra DC, Linge H, Jeffs SC, Roberts S, Ott H. Normothermic liquid ventilation attenuates inflammation from ischemia-reperfusion injury in an ex vivo rat model. *J Heart Lung Transplant*. 2021;40(4S):S344.
45. Bharat A, Querrey M, Markov NS, Kim S, Kurihara C, Garza-Castillon R, Manerikar A, Shilatifard A, Tomic R, Politanska Y, Abdala-Valencia H, Yeldandi AV, Lomasney JW, Misharin AV, Budinger GRS. Lung transplantation for patients with severe COVID-19. *Sci Transl Med*. 2020 Dec 16;12(574):eabe4282. doi: 10.1126/scitranslmed.abe4282.
46. Cypel M, Keshavjee S. When to consider lung transplantation for COVID-19. *Lancet Respir Med*. 2020 Oct;8(10):944-6. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30393-3.

47. Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). Registro Brasileiro de Transplantes. Dados numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados no Brasil no período de janeiro/março 2024. ABTO; 2024. Disponível em: https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2024/05/RBT-2024-jan-mar_POPULACAO.pdf.
48. Chaney J, Suzuki Y, Cantu E 3rd, van Berkel V. Lung donor selection criteria. *J Thorac Dis.* 2014 Aug;6(8):1032-8. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.03.24.
49. Inci I. Donors after cardiocirculatory death and lung transplantation. *J Thorac Dis.* 2017 Aug;9(8):2660-2669. doi: 10.21037/jtd.2017.07.82.
50. Marshall HM, Petruzzelli S, Conway AM. Expansion of donor lung selection criteria: Clinical outcomes and considerations. *Am J Transplant.* 2001;1(1):69-73. doi:10.1034/j.1600-6143.2001.10110.x.
51. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Feb 15;167(4):490-511. doi: 10.1164/rccm.200207-670SO.
52. Morrison MI, Pither TL, Fisher AJ. Pathophysiology and classification of primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Thorac Dis.* 2017 Oct;9(10):4084-97. doi: 10.21037/jtd.2017.09.09.
53. Porteous MK, Lee JC. Primary graft dysfunction after lung transplantation. *Clin Chest Med.* 2017 Dec;38(4):641-4. doi: 10.1016/j.ccm.2017.07.005.
54. Diamond JM, Lee JC, Kawut SM, Shah RJ, Localio AR, Bellamy SL, Lederer DJ, Cantu E, Kohl BA, Lama VN, Borhade SM, Crespo M, Demissie E, Sonett J, Wille K, Orens J, Shah AS, Weinacker A, Arcasoy S, Shah PD, Wilkes DS, Ware LB, Palmer SM, Christie JD; Lung Transplant Outcomes Group. Clinical risk factors for primary graft dysfunction after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Mar 1;187(5):527-34. doi: 10.1164/rccm.201210-1865OC.
55. Shah RJ, Diamond JM. Primary Graft Dysfunction (PGD) Following Lung Transplantation. *Semin Respir Crit Care Med.* 2018 Apr;39(2):148-54. doi: 10.1055/s-0037-1615797.
56. den Hengst WA, Gielis JF, Lin JY, Van Schil PE, De Windt LJ, Moens AL. Lung ischemia-reperfusion injury: a molecular and clinical view on a complex pathophysiological process. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010 Nov;299(5):H1283-99. doi: 10.1152/ajpheart.00251.2010.
57. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S, Waddell TK, McRae K, Liu M, Wigle DA, Keshavjee S. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Jan 15;165(2):211-5. doi: 10.1164/ajrccm.165.2.2011151.
58. Xavier AM, Pêgo-Fernandes PM, Correia AT, Pazetti R, Monteiro R, Canzian M, Jatene FB. Influence of cyclosporine A on mucociliary system after lung transplantation in rats. *Acta Cir Bras.* 2007 Nov-Dec;22(6):465-9. doi: 10.1590/s0102-86502007000600009.

59. Oliveira-Melo P, Nepomuceno NA, Ruiz LM, Correia AT, Vilela VS, de Oliveira Braga KA, Manzuti GM, Feitosa DDM, Kennedy-Feitosa E, Wang A, Cypel M, Fernandes PMP. Angiotensin-converting enzyme 2 activation attenuates inflammation and oxidative stress in brain death donor followed by rat lung transplantation. *Sci Rep*. 2024 Oct 9;14(1):23567. doi: 10.1038/s41598-024-75043-7.
60. Reickert C, Pranikoff T, Overbeck M, Kazerooni E, Massey K, Bartlett R, Hirschl R. The pulmonary and systemic distribution and elimination of perflubron from adult patients treated with partial liquid ventilation. *Chest*. 2001 Feb;119(2):515-22. doi: 10.1378/chest.119.2.515.
61. Orizondo RA, Fabiilli ML, Morales MA, Cook KE. Effects of emulsion composition on pulmonary tobramycin delivery during antibacterial perfluorocarbon ventilation. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*. 2016 Jun;29(3):251-9. doi: 10.1089/jamp.2015.1235.
62. Krebs J, Pelosi P, Tsagogiorgas C, Zoeller L, Rocco PR, Yard B, Luecke T. Open lung approach associated with high-frequency oscillatory or low tidal volume mechanical ventilation improves respiratory function and minimizes lung injury in healthy and injured rats. *Crit Care*. 2010;14(5):R183. doi: 10.1186/cc9291.
63. Rotta AT, Gunnarsson B, Hernan LJ, Fuhrman BP, Steinhorn DM. Partial liquid ventilation with perflubron attenuates in vivo oxidative damage to proteins and lipids. *Crit Care Med*. 2000 Jan;28(1):202-8. doi: 10.1097/00003246-200001000-00033.
64. Pérez M, Mancebo J. Monitorización de la mecánica ventilatoria [Monitoring ventilatory mechanics]. *Med Intensiva*. 2006 Dec;30(9):440-8. Spanish. doi: 10.1016/s0210-5691(06)74567-3.
65. Engstrom CG. Treatment of severe cases of respiratory paralysis by the Engström universal respirator. *Br Med J*. 1954 Sep 18;2(4889):666-9. doi: 10.1136/bmj.2.4889.666.
66. Nieman GF, Gatto LA, Bates JHT, Habashi NM. Mechanical Ventilation as a Therapeutic Tool to Reduce ARDS Incidence. *Chest*. 2015 Dec;148(6):1396-1404. doi: 10.1378/chest.15-0990.
67. Weill D, Benden C, Corris PA, Dark JH, Davis RD, Keshavjee S, Lederer DJ, Mulligan MJ, Patterson GA, Singer LG, Snell GI, Verleden GM, Zamora MR, Glanville AR. A consensus document for the selection of lung transplant candidates: 2014--an update from the Pulmonary Transplantation Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2015 Jan;34(1):1-15. doi: 10.1016/j.healun.2014.06.014.
68. Chambers DC, Yusen RD, Cherikh WS, Goldfarb SB, Kucheryavaya AY, Khusch K, Levvey BJ, Lund LH, Meiser B, Rossano JW, Stehlik J; International Society for Heart and Lung Transplantation. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirty-fourth adult lung and heart-lung transplantation report-2017; Focus Theme: allograft ischemic time. *J Heart Lung Transplant*. 2017 Oct;36(10):1047-59. doi: 10.1016/j.healun.2017.07.016.

69. Pêgo-Fernandes PM, Medeiros IL, Mariani AW, Fernandes FG, Unterpertinger FV, Samano MN, Werebe EC, Jatene FB. Perfusão pulmonar ex vivo: experiência nacional inicial. *J Bras Pneumol.* 2008;34(9):708-712. doi: 10.1590/S1806-37132009001100008.
70. Mariani AW, Pêgo-Fernandes PM, Abdalla LG, Jatene FB. Recondicionamento pulmonar ex vivo: uma nova era para o transplante pulmonar. *J Bras Pneumol.* 2012;38(6):776-85. doi: 10.1590/S1806-37132012000600015.
71. Croce MA, Fabian TC, Patton JH Jr, Melton SM, Moore M, Trentham LL. Partial liquid ventilation decreases the inflammatory response in the alveolar environment of trauma patients. *J Trauma.* 1998 Aug;45(2):273-80; discussion 280-2. doi: 10.1097/00005373-199808000-00012.
72. Wei F, Hu Y, Jiang M, Ye L, Yang L. Effect of perfluorocarbon partial liquid ventilation-induced hypothermia on dogs with acute lung injury. *Ann Palliat Med.* 2020 Jul;9(4):2141-51. doi: 10.21037/apm-20-1275.
73. Rotta AT, Gunnarsson B, Hernan LJ, Fuhrman BP, Steinhorn DM. Partial liquid ventilation with perflubron attenuates in vivo oxidative damage to proteins and lipids. *Crit Care Med.* 2000 Jan;28(1):202-8. doi: 10.1097/00003246-200001000-00033.
74. Smith TM, Steinhorn DM, Thusu K, Fuhrman BP, Dandona P. A liquid perfluorochemical decreases the in vitro production of reactive oxygen species by alveolar macrophages. *Crit Care Med.* 1995 Sep;23(9):1533-9. doi: 10.1097/00003246-199509000-00014.
75. Steinhorn DM, Papo MC, Rotta AT, Aljada A, Fuhrman BP, Dandona P. Liquid ventilation attenuates pulmonary oxidative damage. *J Crit Care.* 1999 Mar;14(1):20-8. doi: 10.1016/s0883-9441(99)90004-7.

ANEXO A – PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA AO LONGO DO PERÍODO DE AVALIAÇÃO

Característica	Doador		Receptor	
	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹
Basal	111 (108, 114)	104 (96, 113)	110 (98, 117)	94 (89, 101)
10 minutos	98 (92, 105)	109 (102, 116)	93 (75, 106)	80 (57, 98)
20 minutos	101 (94, 114)	112 (109, 123)	107 (77, 115)	110 (84, 120)
30 minutos	115 (113, 117)	111 (108, 124)	109 (92, 114)	94 (79, 106)
40 minutos	106 (99, 112)	112 (103, 116)	90 (80, 108)	96 (78, 107)
60 minutos	101 (96, 113)	108 (89, 120)	93 (84, 112)	93 (83, 105)
60 minutos	95 (91, 100)	101 (82, 118)	105 (87, 122)	91 (74, 112)
90 minutos	110 (99, 112)	111 (105, 114)	103 (83, 111)	70 (65, 105)
120 minutos	107 (86, 112)	109 (97, 116)	88 (65, 111)	72 (58, 103)

¹Mediana (Q1, Q3)

ANEXO B – CONTRASTES MOMENTO A MOMENTO - DOADOR

Momento	Diferença estimada	IC95%	Valor P
20	14.473399	3.64 a 25.30	0,009
30	3.598399	-4.52 a 11.72	0,385
40	8.348399	-2.34 a 19.04	0,126
50	3.473399	-8.25 a 15.19	0,561
60	5.473399	-5.42 a 16.37	0,325
90	4.723399	-5.07 a 14.52	0,345
120	12.598399	-2.69 a 27.88	0,106

ANEXO C – CONTRASTES MOMENTO A MOMENTO - RECEPTOR

Momento	Diferença estimada	IC95%	Valor P
0	-13.75	-26.19 to -1.31	0,030
10	-9.88	-30.86 to 11.11	0,356
20	7.00	-16.94 to 30.94	0,567
30	-14.25	-32.37 to 3.87	0,123
40	-4.25	-22.53 to 14.03	0,649
50	-5.13	-20.96 to 10.71	0,526
60	-14.00	-40.90 to 12.90	0,308
90	-16.13	-36.04 to 3.79	0,112
120	-8.00	-32.01 to 16.01	0,514

ANEXO D – PARÂMETROS DE GASOMETRIA ARTERIAL E VENOSA

Característica	Basal				Final					
	Doador		Receptor		Doador			Receptor		
	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Valor P ²	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Valor P ²
pH arterial	7.44 (7.41, 7.51)	7.49 (7.45, 7.62)	7.46 (7.42, 7.52)	7.55 (7.53, 7.60)	7.45 (7.40, 7.49)	7.46 (7.43, 7.51)	0.601	7.27 (7.02, 7.43)	7.36 (6.99, 7.37)	0,862
pH venoso	7.39 (7.37, 7.42)	7.44 (7.38, 7.48)	7.41 (7.37, 7.45)	7.47 (7.45, 7.51)	7.38 (7.37, 7.43)	7.43 (7.39, 7.47)	0.114	7.20 (6.96, 7.29)	7.28 (6.76, 7.38)	0,524
PCO2 arterial	28 (25, 34)	26.1 (23.2, 32.5)	29 (24, 33)	23 (20, 24)	26.7 (22.7, 28.9)	25.5 (21.9, 31.7)	0.694	23 (18.6, 30.0)	20.2 (17.7, 27.7)	0,536
PCO2 venosa	32 (28, 40)	30 (23, 31)	30.2 (28.9, 34.2)	26.9 (23.8, 30.0)	28.5 (24.8, 33.5)	24.6 (20.1, 29.1)	0.281	37 (32, 42)	33 (24, 40)	0,336
PO2 arterial	408 (251, 453)	469 (210, 523)	451 (374, 500)	456 (273, 476)	363 (239, 475)	419 (369, 528)	0.281	113 (88, 176)	152 (98, 307)	0,463
PO2 venosa	44 (39, 54)	46 (38, 66)	45 (34, 49)	41 (38,42)	40 (36, 46)	51 (46, 57)	0.014	36 (29, 45)	36 (30, 87)	0,463
Hematócrito arterial	36.5 (31.5, 38.5)	37.0 (36.0, 40.0)	36.50 (34.50, 39.00)	34.50 (32.50, 36.50)	32.5 (30.5, 36.0)	35 (33.0, 39.0)	0.324	40 (32, 47)	32 (28, 43)	0,562
Hematócrito venoso	32 (30.5, 36.5)	32.0 (28, 36)	32 (24.0, 35.5)	30.5 (27.5, 37.5)	30.5 (27.5, 34.0)	27 (21.0, 32.0)	0.245	38 (28, 40)	38 (16, 39)	0,816
SatO2 arterial	100 (100, 100)	100 (99.90, 100)	100 (99.95, 100)	100 (99.90, 100)	100 (99.85, 100.00)	100 (100.00, 100.00)	0.298	97 (93.75, 99.65)	98.70 (96.40, 99.90)	0,685
SatO2 venosa	82 (71, 90)	83 (82, 94)	79 (63, 88)	80 (78, 82)	76 (72, 81)	86 (86, 91)	0.004	43 (36, 69)	63 (54, 80)	0,232
Lactato arterial	1.15 (1.06, 2.41)	2.37 (1.85, 2.67)	2.54 (2.32, 3.43)	1.97 (1.63, 2.62)	1.33 (1.04, 2.74)	1.57 (0.94, 1.85)	>0.999	7.67 (4.29, 10.21)	3.78 (2.71, 7.31)	0,189
Lactato venoso	1.55 (1.14, 1.89)	1.47 (1.10, 1.71)	2.02 (1.29, 2.77)	1.67 (1.23, 2.08)	1.41 (1.22, 1.94)	1.03 (0.87, 1.25)	0.072	3.7 (2.2, 7.3)	2.9 (1.9, 8.5)	0,867
BE arterial	-1.7 (-4.2, 0.8)	0.1 (-0.3, 1.6)	-1.7 (-6.9, -0.4)	-1.4 (-2.0, 1.1)	-5.9 (-9.1, -3.1)	-3.1 (-4.1, -1.2)	0.152	-12 (-22, -7)	-11 (-25, -8)	>0,999
BE venoso	-2.4 (-8.6, 0.7)	-3.2 (-5.3, -1.8)	-5.1 (-7.0, -0.9)	-3.1 (-5.0, 0.1)	-6.70 (-8.45, -5.35)	-6.10 (-6.90, -4.60)	0.524	-12 (-19, -8)	-13 (-29, -6)	0,684
Glicemia arterial	265 (214, 297)	306 (248, 337)	292 (276, 342)	256 (215, 271)	177 (120, 247)	121 (104, 176)	0.209	260 (219, 309)	196 (120, 207)	0,009
Glicemia venosa	224 (169, 262)	204 (164, 225)	229 (208, 241)	183 (168, 221)	141 (114, 162)	86 (72, 126)	0.025	197 (115, 253)	177 (106, 188)	0,281
Creatinina arterial	0.37 (0.30, 0.42)	0.42 (0.31, 0.55)	0.30 (0.30, 0.30)	0.49 (0.38, 0.60)	0.35 (0.30, 0.40)	0.37 (0.30, 0.46)	0.647	0.78 (0.57, 0.90)	0.68 (0.63, 0.76)	0,451
Creatinina venosa	0.300 (0.300, 0.360)	.310 (0.300, 0.350)	0.31 (0.30, 0.33)	0.37 (0.32, 0.44)	0.300 (0.300, 0.350)	0.300 (0.300, 0.340)	0.930	0.55 (0.45, 0.66)	0.86 (0.74, 1.13)	0,009
HCO3 arterial	22.50 (19.10, 23.60)	23.70 (22.00, 25.50)	22.1 (16.2, 23.1)	19.5 (17.9, 21.5)	17.20 (14.40, 18.90)	21.00 (15.20, 22.30)	0.267	12.3 (6.2, 16.8)	16.6 (1.3, 17.0)	>0,999

¹Mediana (Q1, Q3)²Teste de Wilcoxon

ANEXO E – PARÂMETROS DE MECÂNICA PULMONAR

Característica	Doador			Receptor		
	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Valor P ²	Controle N = 8 ¹	PFB N = 8 ¹	Valor P ²
Rrs basal	0.11 (0.08, 0.13)	0.17 (0.13, 1.47)	0.028	0.09 (0.07, 0.12)	0.14 (0.09, 0.23)	0,106
Rrs final	0.09 (0.07, 0.13)	0.27 (0.22, 0.40)	<0.001	0.27 (0.13, 0.50)	0.11 (0.10, 0.17)	0,083
Ers basal	1.48 (1.40, 1.58)	1.68 (1.42, 2.24)	0.234	1.46 (1.30, 1.49)	1.45 (1.30, 1.87)	>0,999
Ers final	1.52 (1.35, 1.64)	2.93 (2.53, 3.53)	<0.001	3.51 (2.20, 6.87)	2.11 (1.72, 2.69)	0,083
Crs basal	0.68 (0.63, 0.71)	0.60 (0.45, 0.70)	0.234	0.68 (0.67, 0.77)	0.69 (0.53, 0.77)	>0,999
Crs final	0.66 (0.61, 0.74)	0.34 (0.29, 0.40)	<0.001	0.30 (0.15, 0.46)	0.47 (0.38, 0.58)	0,083

¹Mediana (Q1, Q3)²Teste de Wilcoxon