

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:
PNEUMOLOGIA**

**IMPACTO DA VENTILAÇÃO LÍQUIDA PARCIAL COM
PERFLUOROCARBONO APÓS A REPERFUSÃO DE ENXERTO EM
MODELO CANINO DE TRANSPLANTE PULMONAR UNILATERAL
ESQUERDO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CRISTIANO FEIJÓ ANDRADE

Orientadores

Prof. Dr. Paulo Francisco Guerreiro Cardoso

Prof. Dr. Nelson da Silva Porto

Porto Alegre - 2001

FICHA CATALOGRÁFICA

A553i Andrade, Cristiano Feijó

Impacto da ventilação líquida parcial com perfluorocarbono após a reperfusão do enxerto em modelo canino de transplante pulmonar unilateral esquerdo / Cristiano Feijó Andrade; orient. Paulo Francisco Guerreiro Cardoso, . – Porto Alegre 2001.

89f.:il.color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pneumologia.

1. Pulmão: Irrigação. 2. Transplante de pulmão. 3. Ventilação pulmonar. 4. Fluorocarbonetos. . 5. Isquemia. I. Cardoso, Paulo Francisco Guerreiro. II. Porto, Nelson da Silva. III. Título.

NLM: WF 600

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, Ernesto e Ruth pelo apoio, dedicação e carinho em todas as horas e nos momentos mais difíceis. Aos meus irmãos Ernesto e Rubens, pelo momentos de amizade e convivência.

AGRADECIMENTOS

Aos estudantes de medicina Lucas K. Martins, Luis C. Anflor Jr., Cristiano Koehfender, Tiago A. Tonietto, Frederico K. Martins e aos agora médicos Gabriel Madke, Eduardo S. Pilla, Tulio A. Tonietto que dedicaram grande parte de seu tempo em prol do laboratório de cirurgia experimental e dos experimentos nele realizados. Sem a participação e empenho destes estudantes seria impossível a realização deste trabalho.

Ao Dr. Paulo Francisco Guerreiro Cardoso, meu orientador, pessoa exemplar por sua dedicação pela pesquisa, postura profissional, amizade, confiança e apoio total e irrestrito a este trabalho.

Ao Dr. José de Jesus Peixoto Camargo, pela oportunidade de participar como residente do Departamento de Cirurgia Torácica do Pavilhão Pereira Filho e pela sua participação no meu aprendizado.

Ao Dr. José Carlos Felicetti, pela amizade, confiança, convívio e ensinamentos que foram (e são) muito importantes para minha prática diária em cirurgia torácica. Além de seu estímulo e paciência na cirurgia torácica pediátrica.

Ao Dr. José da Silva Moreira, pelo seu empenho e incansável trabalho frente ao programa de pós-graduação em pneumologia, sempre apoiando e incentivando os alunos deste curso.

Ao Dr. José Wellington Alves dos Santos, professor de pneumologia da Universidade Federal de Santa Maria, que me incentivou no estudo da pneumologia.

Aos Drs. Sylvana Vianna, Marcelo Zanchett, Spencer Marcantonio Camargo, meus companheiros de residência e amigos que me deram apoio e auxiliaram durante o mestrado.

Ao Dr. Evaldo Marchi, professor de cirurgia torácica da Faculdade de Medicina de Jundiaí e Professor da Pós-graduação em Pneumologia da Universidade de São Paulo, pelo exemplo de médico, por seu auxílio e amizade.

Ao Prof. Dr. César Tadeu Spadella, professor de cirurgia da Faculdade de Medicina de Botucatu, por mostrar que ainda existem pessoas dedicadas com o ensino e a pesquisa.

Aos funcionários e enfermeiros da UTI e bloco cirúrgico do Pavilhão Pereira Filho pela cooperação e contribuição com este trabalho.

Aos Drs. Nilton Brandão e Elaine F. Fortis, pelo apoio e ensinamentos sobre ventilação mecânica e pela convivência diária.

Ao Dr. Artur Antônio Rodrigues Burlamaque, que sempre foi colaborativo e prestativo durante minha formação em cirurgia torácica.

Aos funcionários da pós-graduação da FFFCMPA, pela ajuda fundamental na obtenção dos materiais para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Jorge Lima Hetzel, diretor da FFFCMPA, pelo apoio total ao Laboratório de Cirurgia Experimental desta Faculdade e pela aquisição do Perfluorocarbono para nossos experimentos.

A professora doutora Carla Tencaten, do Departamento de Engenharia de Produção da UFRGS, pela assistência na análise estatística dos dados desta pesquisa.

A empresa Siemens pela doação do Ventilador Servo 900C e Laboratórios Cristália e Abbott pelo suprimento de material de consumo para anestesia utilizado nos experimentos.

A Marco Aurélio, secretário da pós graduação em Pneumologia, pelo seu dinamismo e auxílio para a realização deste trabalho.

As Dra.(s) Beatriz G. Moraes e Gisela M. B. Meyer, pela convivência diária e amizade.

INDÍCE

LISTA DE FIGURAS E TABELA	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
RESUMO	XIII
ABSTRACT	XV
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1. Histórico dos transplantes e preservação pulmonar	5
3.2. Injúria de reperfusão: mecanismo e controle	9
3.3. Histórico da ventilação líquida	13
3.3.1.Ventilação líquida e SARA	24
3.3.2.Modos ventilatórios e ventilação líquida parcial	27
3.3.3.Aplicação clínica da ventilação líquida parcial	29
3.3.4.Ventilação líquida e transplante pulmonar	33
4. MATERIAL E MÉTODOS	37
5. RESULTADOS	49
6. DISCUSSÃO	60
7. CONCLUSÕES	71
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

LISTA DE FIGURAS E TABELA

FIGURA 1	Desenho esquemático do mecanismo da injúria de reperfusão.....	12
FIGURA 2	Desenho esquemático do metabolismo dos PFC no organismo.....	18
FIGURA 3	Representação esquemático de sistema de ventilação líquida total.....	21
FIGURA 4	Desenho esquemático do mecanismo da ventilação líquida parcial.....	23
FIGURA 5	Modelo canino de transplante unilateral utilizado: Canulação do átrio esquerdo à partir do apêndice atrial esquerdo.....	42
FIGURA 6	Modelo canino de transplante unilateral utilizado: bloco cardio-pulmonar do doador.	43
FIGURA 7	Modelo canino de transplante unilateral utilizado: Início da dissecação do átrio esquerdo no bloco cardio-pulmonar do doador.....	44

FIGURA 8	Modelo canino de transplante unilateral utilizado: isolamento de árvore brônquica direita.....	45
FIGURA 9	Modelo canino de transplante unilateral utilizado: anastomoses atrial esquerda e da artéria pulmonar no receptor.....	46
FIGURA 10	Instilação de perfluorocarbono: conector utilizado para instilação de PFC pelo tubo orotraqueal.....	47
FIGURA 11	Pulmão submetido a VLP após 6 horas de observação.....	48
FIGURA 12	Pressão arterial média em ambos os grupos.....	52
FIGURA 13	Pressão arterial média na artéria pulmonar em ambos os grupos.....	53
FIGURA 14	Pressão de Pico de vias aéreas antes e após o transplante.....	54
FIGURA 15	Pressão de Platô antes e após o transplante.....	55

FIGURA 16	Complacência estática observada nos 2 grupos antes e após o implante do enxerto.....	56
FIGURA 17	PaO ₂ antes e após reperfusão do enxerto.....	57
FIGURA 18	PaCO ₂ em ambos os grupos antes e após transplante.....	58
FIGURA 19	Relação peso úmido/seco entre os grupos após 6 horas de reperfusão do enxerto.....	59
TABELA	Principais propriedades dos perfluorocarbonos mais utilizados em estudos experimentais.....	15

LISTA DE ABREVIATURAS

(A-a)O₂ – Gradiente alvéolo-arterial de oxigênio

cpm – ciclos respiratórios por minuto

CRF – Capacidade Residual Funcional

Cst – Complacência Estática

Curva P-V – Curva Pressão-Volume

FFFCMPA – Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre

FiO₂ – Fração Inspirada de Oxigênio

FR – Frequência Respiratória

HCO₃ – Bicarbonato de Sódio.

LPD – Low K⁺ Dextran

MOEC – Membrana de Oxigenação Extra-corpórea

PAM – Pressão Arterial Média

PaCO₂ – Pressão Parcial de Gás Carbônico no sangue arterial

PaO₂ – Pressão Parcial de Oxigênio no sangue arterial

PEEP – Pressão Expiratória Final Positiva

PFB – Perfluorobromo

PFC – Perfluorocarbono

PFCs – Perfluorocarbonos

PFD – Perfluorodecalina

Pflex-inf – Pressão no Ponto de inflexão inferior

PMAP – Pressão Média da Artéria Pulmonar

Pmva – Pressão Média das Vias Aéreas

PPI – Pressão de Pico ou Pressão Máxima

PPLAT – Pressão de Platô

Relação I:E – Relação Inspiratória:Expiratória

SARA – Síndrome da Angústia Respiratória Aguda

TGAPFC – Troca Gasosa Associada a Perfluorocarbono

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VCV – Ventilação Controlada a Volume

VCP – Ventilação Controlada a Pressão

VL – Ventilação Líquida

VLP – Ventilação Líquida Parcial

VLT – Ventilação Líquida Total

VT – Volume Corrente

RESUMO

A doação pulmonar após parada cardio-circulatória tem sido estudada experimentalmente na obtenção de órgãos para transplante, porém a severa lesão isquêmica/reperfusão exige métodos de preservação que permitam viabilidade pulmonar. Isto levou-nos a testar novas alternativas de proteção ao enxerto após o transplante pulmonar. Devido as semelhanças entre as alterações encontradas na injúria de reperfusão após transplante pulmonar e àquelas observadas na síndrome da angústia respiratória aguda (SARA) utilizamos um novo método de ventilação, estudado em modelos experimentais de SARA e em alguns ensaios clínicos, chamado de ventilação líquida parcial. Utilizamos a ventilação líquida parcial com perfluorocarbono após transplante unilateral esquerdo em modelo canino de transplante pulmonar. Neste trabalho, doze cães doadores heparinizados foram sacrificados com tiopental sódico e mantidos à temperatura ambiente sob ventilação mecânica durante 3 horas, os blocos cardio-pulmonares foram perfundidos via retrógrada com solução de Perfadex® e extraídos. Os receptores (n=12) foram anestesiados, pneumonectomizados e submetidos à transplante pulmonar esquerdo. Após a reperfusão do enxerto, foi realizada a randomização e os animais divididos em 2 grupos: controle (grupo I) e ventilação líquida parcial (grupo II). No grupo da ventilação líquida parcial os animais receberam Perfluorodecalin® (15ml/kg) pelo tubo orotraqueal e foram mantidos sob ventilação controlada a volume (FiO₂: 1,0; PEEP: 5 cmH₂O) por 6 horas sendo então sacrificados. Enquanto que no grupo controle os animais receberam os mesmos parâmetros ventilatórios e foram observados durante o

mesmo período de tempo. Durante a observação obtiveram-se medidas hemodinâmicas, de mecânica ventilatória e foram analisados os gases arteriais. Houve diferença significativa da pressão média da artéria pulmonar em ambos os grupos sendo esta mais elevada no grupo II ($p<0,009$). Ocorreu diferença significativa com relação a PaO_2 que manteve-se mais elevada no grupo I ($p<0,00001$) e uma retenção de PaCO_2 no grupo II ($p<0,008$). As pressões pico e de platô foram mais elevadas no grupo II com relação ao grupo I ($p<0,00001$), não ocorrendo diferença significativa na complacência estática entre os dois grupos ($p=0,08$). Concluímos que a ventilação líquida parcial pode ser realizada neste modelo experimental de transplante pulmonar, porém o grupo submetido a ventilação mecânica convencional apresentou resultados funcionais superiores e manteve boa viabilidade pulmonar quando comparado a ventilação líquida parcial durante 6 horas de avaliação após transplante pulmonar.

ABSTRACT

Lung retrieval following cardio-circulatory arrest has been studied experimentally, however severe ischemia/reperfusion injury demands constant improvements in graft preservation and protection. This study was designed to test a novel method for protecting the graft after lung transplantation using partial liquid ventilation (PLV), since the mechanisms of lung reperfusion injury and acute respiratory distress syndrome share similar features and the latter has been also treated by means of PLV with perfluorocarbons. PLV was used following transplantation in a canine experimental model of left lung allotransplantation. Twelve donor dogs were anticoagulated and sacrificed with a lethal dose of intravenous sodium thiopental. After death was ascertained, the animals were intubated orotracheally and kept on mechanical ventilation during three hours at room temperature. The heart-lung bloc was then harvested following a retrograde pulmonary hypothermic flush with Perfadex[®]. The left lung grafts were then transplanted into 12 matched recipient animals in a randomized fashion. Upon completion of transplantation the recipient animals were divided in two groups: group I animals (controls, n=6) received conventional mechanical ventilation whilst animals in group II (n=6) received partial liquid ventilation with Perfluorodecalin[®] (15ml/kg) instilled via the orotraqueal tube. Both groups received volume controlled ventilation (FiO₂: 1,0; PEEP: 5 cmH₂O) during six consecutive hours. Blood gas analysis, ventilatory mechanics and hemodynamics measurements were registered in 30-minute intervals throughout the experiments. Upon completion of the 6-hour observation period the animals were sacrificed. There were significant differences in pulmonary arterial pressure, which were higher in

group II ($p<0,009$). The group I showed arterial PaO_2 higher than group II ($p<0,00001$), as well as higher PaCO_2 ($p<0,008$). The peak and plateau pressures were significantly higher in group II animals ($p<0,00001$). The static compliance was not different in both groups ($p=0,08$). We conclude that partial liquid ventilation with perfluorocarbons can be instituted in this model of pulmonary transplantation. Nevertheless, pulmonary function was superior after reperfusion in the animals submitted to conventional mechanical ventilation up to six hours following left lung allotransplantation in this experimental setting.

1. INTRODUÇÃO

O transplante pulmonar pode apresentar várias complicações no período pós operatório precoce, como injúria de isquemia/reperfusão, atelectasia, rejeição e infecção. Avanços nas técnicas de preservação pulmonar têm reduzido a incidência de disfunção precoce do enxerto, entretanto os mecanismos que envolvem a injúria de reperfusão ainda são responsáveis por cerca de 20% da mortalidade após o transplante pulmonar (PARQUIN, F.,et al., 1994). O insulto isquêmico ao pulmão durante o período de armazenamento e implante pode induzir a uma resposta inflamatória capaz de afetar não somente a função do enxerto na reperfusão, como também no resultado funcional a longo prazo (ADOUMIE, R.,et al., 1992).

A reduzida oferta de doadores permanece como obstáculo principal ao desenvolvimento dos programas de transplante pulmonar. Fontes alternativas de obtenção de órgãos tem sido estudadas, dentre elas, a obtenção de pulmões de doadores após parada cardíaco-circulatória (EGAN, T.,et al., 1991). Resultados funcionais satisfatórios foram observados utilizando hiperventilação de pulmões de animais doadores, submetendo-os à períodos de até 4 horas de isquemia normotérmica (ULINCNY, K.,et al., 1993). A preservação pulmonar para transplante através da administração de soluções na circulação pulmonar no ato da extração do enxerto, é o método de eleição em uso clínico corrente. Recentemente foi relatado um caso de transplante pulmonar de doador cadáver, com tempo de isquemia normotérmica de 1 hora seguido de 3 horas de isquemia

hipotérmica. O receptor sobreviveu 5 meses após o transplante, falecendo de causa não relacionada a função do enxerto (STEEN, S., et al., 2001).

Novas alternativas de ventilação têm sido estudadas, em quadros de insuficiência respiratória, com objetivo de melhorar a oxigenação e minimizar a agressão ao parênquima pulmonar. A utilização de perfluorocarbonos (PFC) líquidos administrados diretamente na via aérea, têm demonstrando bons resultados em modelos de injúria pulmonar, entretanto poucos estudos têm sido realizados em modelos de transplante pulmonar. Os PFC são substâncias que possuem baixa tensão superficial, alta densidade, são insolúveis em água, além de permitirem alta difusão de oxigênio (O_2) e gás carbônico (CO_2). Estes compostos atuam recrutando alvéolos colapsados, melhorando a oxigenação, além de possuírem atividade anti-inflamatória, protegendo assim a arquitetura pulmonar, e atuando como carreadores de impurezas, limpando a superfície alveolar de resíduos da degradação celular (WOLFSON, M., et al., 1998).

A ventilação líquida parcial (VLP), é um método no qual utilizando-se um ventilador convencional, o perfluorocarbono líquido é administrado pela via aérea em quantidade suficiente para que sua permanência se restrinja à via aérea distal e alvéolos, substituindo-se assim a interface ar-água por ar-PFC-alvéolo. O volume de PFC utilizado é o equivalente a capacidade residual funcional (CRF). A vantagem deste método reside na facilidade de execução, já que pode ser utilizado em qualquer unidade de tratamento intensivo (FUHRMAN, B., et al., 1991). A utilização clínica mais freqüente da VLP tem sido na síndrome da angústia respiratória aguda tanto em adultos como em crianças (HIRSCHL, R., et al., 1998, HIRSCHL, R., et al., 1995, LEACH, C., et al., 1996).

As alterações pulmonares associadas à síndrome da angústia respiratória aguda e injúria de reperfusão após transplante pulmonar possuem várias características clínicas e patológicas em comum (ADOUMIE, R., et al., 1992, BUCHANAN, S., et al., 1996, MATTHAY, M., 1999). Métodos de proteção e preservação pulmonar, como o uso de surfactante, têm sido estudados atualmente demonstrando resultados satisfatórios (BUCHANAN, S., et al., 1996). Devido a semelhança entre propriedades e funções dos surfactantes e perfluorocarbonos, existem apenas dois estudos realizados verificando a efetividade dos perfluorocarbonos em modelo animal de transplante pulmonar (ITANO, H., et al., 1999, LOEHE, F., et al., 2000). Ambos os estudos foram realizados com preservação pulmonar de 18 horas de isquemia hipotérmica.

Itano et al (ITANO, H., et al., 1999), utilizaram PFC após o transplante pulmonar enquanto que Loehe et al (LOEHE, F., et al., 2000) o utilizaram antes do transplante como método único de preservação do enxerto pulmonar. No presente estudo utilizamos um modelo de transplante pulmonar, cujos pulmões do doador foram mantidos em ventilação mecânica durante três horas após parada cardio-circulatória em temperatura ambiente (KOHMANN, J., et al., 1999), sendo adicionado a este período 3 horas de isquemia hipotérmica. Neste modelo de injúria isquêmica severa o PFC foi instilado 30 minutos após a estabilização do enxerto pulmonar. O desempenho pulmonar pós transplante foi comparado entre grupos de animais que foram submetidos a ventilação mecânica convencional e ventilação líquida parcial com PFC após o transplante, através de parâmetros ventilatórios, hemodinâmicos e análise dos gases arteriais.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Testar a exequibilidade do método de ventilação líquida parcial com perfluorocarbono após modelo canino de transplante pulmonar unilateral esquerdo.

Objetivo específico

Estudar o impacto da ventilação líquida parcial com perfluorocarbono sobre a mecânica ventilatória após transplante pulmonar canino unilateral esquerdo .

Avaliar o impacto da ventilação líquida parcial com perfluorocarbono sobre as trocas gasosas em modelo canino de transplante pulmonar unilateral esquerdo.

Avaliar as repercussões hemodinâmicas através do uso de perfluorocarbono durante a ventilação líquida parcial em modelo canino de transplante unilateral esquerdo.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico dos transplantes e preservação pulmonar

As primeiras tentativas experimentais de realização de transplante pulmonar isolado remontam os fins da década de quarenta, quando Demikhov (DEMIKHOV, V., 1962) em 1947 realizou os primeiros homoenxertos pulmonares em cães. Três anos depois, Metras, em 1950 publicou o primeiro relato da técnica de alotransplante pulmonar em cães. Muitos esforços se somaram para a consolidação dos princípios técnicos iniciais que nortearam os transplantes pulmonares, entretanto pouco era conhecido a respeito da fisiologia do enxerto e dos danos causados pela isquemia e reperfusão.

O reconhecimento da preservação pulmonar como necessária aos transplantes só adquiriu projeção a partir da introdução da ciclosporina para imunossupressão a qual tornou os transplantes de órgãos uma realidade clínica. Apesar disso, o primeiro transplante clínico foi realizado em 1963 por Hardy et al. com sobrevivência de 18 dias após o transplante. Nos vinte anos seguintes, foram realizadas 22 tentativas de transplante pulmonar clínico em diversos centros sem êxito, com exceção de um único caso relatado por Derom (DEROM, F., et al., 1971) em um paciente portador de silicose que sobrevivera dez meses após um transplante pulmonar unilateral, sucumbindo em virtude de uma pneumonia.

As contribuições mais significativas para o desenvolvimento do transplante pulmonar clínico foram fornecidas pela divisão de cirurgia torácica da Universidade de Toronto, Canadá. Em 1978 o primeiro transplante pulmonar unilateral lá realizado em um paciente portador de um severo dano pulmonar causado por queimaduras na via aérea secundárias à inalação de fumaça também seria fadado ao insucesso. O paciente faleceu no 17º dia de pós-

operatório devido à necrose e deiscência da anastomose brônquica (NELEMS, J., et al., 1980). Mais tarde, concluiu-se que a causa provável da necrose seria o uso de altas doses de corticosteróides no esquema de imunossupressão, após o transplante. Estudos experimentais envolvendo a cicatrização brônquica subseqüentemente concluíram que o retardo na utilização de prednisona no pós-operatório do transplante pulmonar reduziria significativamente o risco de complicações anastomóticas em adição ao uso de omentoplastia para proteção da anastomose brônquica (LIMA, O., et al., 1982). Estes achados cunharam as bases para modificações técnicas e estratégicas que motivaram o Grupo de Toronto a realizar outro transplante em paciente portador de intoxicação por paraquat. O transplante pulmonar à direita foi realizado, seguido de transplante à esquerda 3 semanas após devido a dano pulmonar no enxerto à direita causado pelo paraquat. O paciente faleceu 3 meses após o transplante em ventilação mecânica devido a progressão da miopatia pelo paraquat e falência de múltiplos órgãos (TORONTO, 1985).

Após um longo período de pesquisas, reavaliação dos critérios de seleção dos receptores e da técnica cirúrgica, o mesmo grupo de cirurgiões relatou em 1983 o primeiro transplante pulmonar unilateral realizado com sucesso um paciente de 58 anos portador de fibrose pulmonar (TORONTO 1986). O paciente recebeu alta hospitalar 6 semanas após o transplante e retornou à vida produtiva. Desde então, este tem sido considerado como o “marco zero” para o transplante pulmonar clínico realizado com sucesso. Todas as modificações técnicas, do manuseio clínico, seleção de doadores e receptores advieram desta experiência inicial. Ainda hoje a experiência de Toronto ocupa posição de destaque no cenário mundial do transplante pulmonar com mais de 430 transplantes realizados com

resultados à curto e longo prazos que norteiam a literatura mundial. Paralelamente ao sucesso dos transplantes clínicos, à partir dos anos oitenta, os esforços intensificaram-se na pesquisa dos mecanismos básicos de preservação pulmonar.

A partir da proliferação dos programas de transplante pulmonar a procura de órgãos à distância passou de opção à necessidade, uma vez que a pressão sofrida pelos centros de transplante tornou-se crescente pela súbita demanda criada pelo aumento quantitativo de receptores potenciais. Com esta demanda criou-se uma desproporção exponencial entre número de receptores e oferta de órgãos. As listas de espera cresceram em todos os centros e a mortalidade dos candidatos em lista findou por ditar uma profunda reestruturação e flexibilização nos critérios de seleção de doadores e obtenção de órgãos para atender esta demanda. Este problema não está resolvido apesar de enormes esforços empreendidos em todas as áreas que envolvem a captação de órgãos.

A necessidade de preservarem-se os enxertos pulmonares de forma segura por períodos mais longos permite a busca de órgãos à distância, oferecendo assim uma solução paliativa para a situação. O tempo de isquemia passou a ser a questão inicial a ser respondida. O limite inicial de isquemia normotérmica, inicialmente de 4 horas, foi estabelecido ainda em 1952 através de estudos experimentais em cães (BLADES, B., et al., 1952). No ano seguinte, o mesmo investigador demonstrou o significativo comprometimento da capacidade de troca gasosa nos pulmões de cães quando submetidos a 90 minutos de isquemia normotérmica (BLADES, B., et al., 1953). Homatas et al em 1968 estudaram pulmões caninos extraídos de animais após parada cárdio-circulatória em períodos de até 6 horas. Esses autores demonstraram em modelo de

perfusão isolada do pulmão que, após 2 horas de isquemia observava-se clara deterioração das trocas gasosas pulmonares secundária ao aparecimento de severo edema pulmonar. Este limite de tolerância isquêmica de 2 horas foi confirmado posteriormente em 1971 por Veith et al, em modelo de isquemia normotérmica pulmonar *in situ*. A partir desses estudos ficou claro que o limite de tolerância à isquemia dos pulmões era diferente dos demais órgãos sólidos, limitando sobremaneira sua utilização segura em condições de isquemia normotérmica em períodos superiores a 2 horas após sua extração.

Os mecanismos envolvidos na disfunção pulmonar após o implante e reperfusão já eram conhecidos a partir de estudos experimentais e clínicos sobre o insulto isquêmico nos membros inferiores após cirurgia vascular e músculo cardíaco. Tais mecanismos, quando transpostos para o pulmão, traduzir-se-iam pelo que conhecemos hoje como mecanismos de injúria e reperfusão. Entretanto, nos primórdios dos estudos de preservação pulmonar, pouco se conhecia a respeito de métodos de controle destes mecanismos, o que deu origem a uma tendência ainda atual de "emprestar-se" soluções para problemas semelhantes aos que ocorriam após a isquemia de outros órgãos sólidos.

A exemplo do coração, os estudos pioneiros de Bigelow (BIGELOW, W., et al., 1950) sobre hipotermia na década de 1950, cunharam os princípios até hoje utilizados na cirurgia cardíaca moderna. Assim sendo, a hipotermia foi incorporada precocemente como método de preservação pulmonar presente em todas as modalidades de preservação em uso clínico até nossos dias. De início, os métodos de produção da hipotermia pulmonar variaram desde a imersão simples com o pulmão desinsuflado, resfriamento central do doador através de circulação extra-corpórea com hipotermia profunda (HARJULA, A., et al., 1988),

até o método mais utilizado na atualidade representado pela perfusão pulmonar com solução hipotérmica, associada a insuflação do pulmão . Este método de preservação pulmonar originou-se de um relato clínico (WHITE, J., et al., 1966) de perfusão do enxerto pulmonar esquerdo com solução cristalóide (Ringer Lactato) a 4°C. A perfusão do enxerto com soluções de preservação gerou uma profusão de publicações científicas que dominaram o cenário da preservação pulmonar nos últimos vinte anos. Inúmeras soluções de preservação foram e tem sido propostas, entretanto, apenas algumas delas ganharam uso clínico corrente. Com base em estudos experimentais de preservação de outros órgãos, mais tarde foram incorporadas substâncias conhecidas como aditivos anti-injúria (JACKSON, J., et al., 1986), bem como métodos alternativos de perfusão pulmonar do enxerto com solução de preservação no momento da extração, sempre no intuito de reduzirem-se os efeitos nocivos causados pelo binômio injúria isquêmica/reperfusão. Na fase mais atual, a preservação pulmonar tem se beneficiado das novas tecnologias de manipulação e terapia genéticas, as quais encontram-se em fases avançadas de experimentação devendo ser anexadas ao uso clínico corrente num futuro próximo (BOASQUEVISQUE, C., et al., 1999).

3.2. Injúria de reperfusão: mecanismo e controle

A injúria de reperfusão compreende uma série de fenômenos que decorrem da recirculação do sangue (reperfusão) em um órgão cuja circulação sangüínea tenha sido interrompida temporariamente (isquemia). O produto final desta seqüência de eventos será a alteração da permeabilidade capilar cuja graduação será diretamente proporcional ao grau do dano isquêmico o qual, por sua vez, pode variar do edema intersticial até a ruptura vascular com hemorragia. Apesar

de todos os avanços atingidos nos transplantes pulmonares, cerca de 20% da mortalidade logo após o transplante é causada por mecanismos que envolvem a injúria de reperfusão (PARQUIN, F., et al., 1994).

Sabe-se hoje que a chamada toxicidade pelo oxigênio desempenha papel fundamental na gênese e manutenção da injúria de reperfusão. A compreensão dos mecanismos envolvidos na toxicidade pelo oxigênio só se tornou conhecida quando em 1985 McCord (MCCORD, J., 1985) propôs e explicou a ação dos metabólitos de oxigênio durante o período de reperfusão de tecidos isquêmicos através da produção dos chamados radicais livres de oxigênio.

Os radicais livres de oxigênio podem ser gerados pela rota da mieloperoxidase de várias células, incluindo os neutrófilos e macrófagos alveolares (SAGONE, A., et al., 1989). Outra fonte em potencial seria a produção de radicais livres derivados do oxigênio a partir de subprodutos da degradação do trifosfato de adenosina (ATP) no metabolismo das xantinas. Ocorre que, com a redução e/ou interrupção do fluxo sanguíneo para o tecido (isquemia), há uma redução na disponibilidade de ATP, pois este é degradado para difosfato de adenosina (ADP) e hipoxantina. Isto, em adição ao aumento na concentração de cálcio disponível no citosol oriundo do meio extracelular, irá ativar uma protease capaz de converter a enzima xantina-desidrogenase em xantina-oxidase. Portanto, durante a isquemia ocorre a produção de hipoxantina e de xantina-oxidase a qual ainda necessita de um substrato, o oxigênio, que aparece na reperfusão induzindo a produção de radicais livres.

O radical livre é uma molécula que contém um número ímpar de elétrons (representada pela sigla O_2^-), deixando-o com uma coligação em aberto. Esta característica confere ao composto propriedades quimicamente reativas

permitindo ao radical livre participar em reações em cadeia através de coligações múltiplas. A peroxidação de ácidos graxos insaturados pode ser uma destas reações iniciadas por um radical livre. Estes radicais livres de oxigênio (também chamados de ânions superóxido) podem também servir como agentes oxidantes ou redutores, o que os torna capazes de interferir na integridade da membrana endotelial vascular. O endotélio vascular é a primeira superfície do enxerto em contato com o sangue reperfundido. Os experimentos de Rosen & Freeman (ROSEN, G., et al., 1985) demonstraram que as células endoteliais em cultura eram capazes de produzir ânions superóxido *in vitro*.

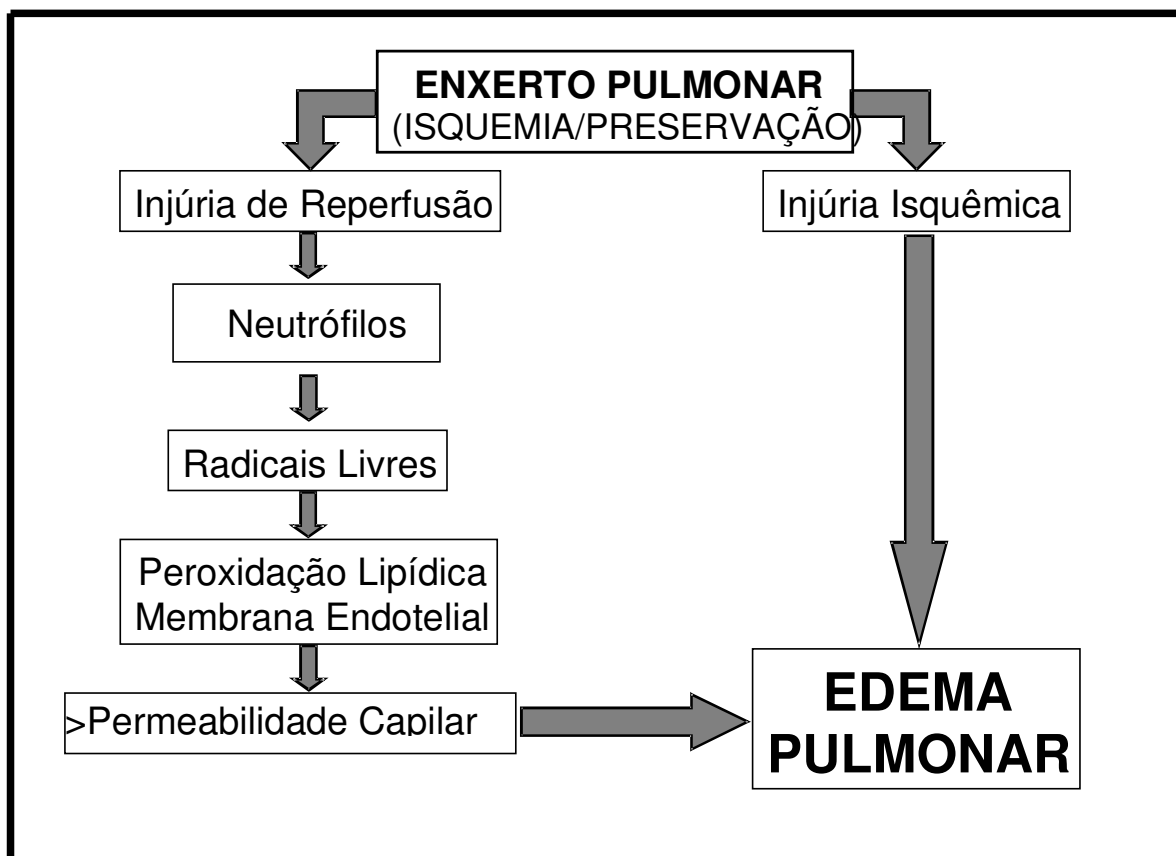
Em uma forma análoga ao que ocorre na toxicidade pulmonar induzida pelo oxigênio, a ação dos neutrófilos também contribui para a injúria de reperfusão. Dentre os mecanismos propostos, a produção de radicais livres irá determinar lesão endotelial direta pelos ânions superóxido, induzindo a um aumento da aderência de neutrófilos através da ativação de seus mecanismos quimiotáticos.

Sendo assim, a produção de radicais livres na injúria de reperfusão é capaz de produzir lesão endotelial através de mecanismos interligados, seja por ação direta ou pela ativação dos neutrófilos (FIGURA 1). O pulmão parece ser particularmente sensível à este tipo de injúria, não só pela sua extensa rede capilar como pela grande e imediata disponibilidade de oxigênio no momento de sua reperfusão. Esta conjunção de fatores adicionados à necessidade de manutenção estável da permeabilidade capilar pulmonar para o funcionamento adequado do órgão, tornam a injúria de reperfusão pulmonar um mecanismo com potencial lesivo devastador nos transplantes capaz de inviabilizar o enxerto em poucas horas. Baseados nestas constatações, vários estudos concentraram-se

em adicionar substâncias às soluções de preservação e no momento da reperfusão dos enxertos pulmonares no intuito de minimizarem-se estes efeitos.

FIGURA 1

Desenho esquemático do mecanismo da injúria de reperfusão



3.3 Histórico da ventilação líquida

A idéia e o fascínio de que animais terrestres poderiam respirar em meio líquido, tem despertado o interesse de pesquisadores durante décadas. Em 1962 Kylstra demonstrou em pulmões de ratos preenchidos por solução salina oxigenada uma sobrevivência de até 18 horas quando submersos a altas pressões. O principal problema enfrentado neste período era representado pelos líquidos utilizados, pois estes retinham CO_2 e não permitiam uma difusão adequada dos gases na membrana alvéolo capilar, mesmo quando oxigenados em altas pressões (KYLSTRA, J., et al., 1966, SHAFFER, T., et al., 1992). Inicialmente estes estudos eram realizados com soluções salinas oxigenadas, além de outros líquidos, como por exemplo, óleo de silicone ou óleo mineral. Nesta mesma década foi verificado que os perfluorocarbonos líquidos eram excelentes carreadores de oxigênio e de gás carbônico. Com esta descoberta em 1966 Clark & Gollan (CLARK, L., et al., 1966) inundaram pulmões de ratos e gatos com perfluorocarbono e verificaram que estes animais eram capazes de respirar em meio líquido por até 20 horas e retornar com sucesso a respiração em ar ambiente, sendo este o marco inicial da ventilação líquida com perfluorocarbonos.

Os perfluorocarbonos são líquidos incolores, densos e não tóxicos. Têm alta estabilidade química e física. Possuem baixa tensão superficial e são até duas vezes mais densos que a água. Dependendo da complexidade das moléculas dos PFC, sua densidade pode variar entre 1.75 a 2 g/ml. Quanto a solubilidade, são geralmente pobres solventes e essencialmente insolúveis em água e álcoois (SARGENT, J., et al., 1970). Gases, tais como hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, dióxido de carbono, e gases inertes são altamente solúveis em PFC (PETERSON, R., 1970, OSBUORN, J., 1970). A difusibilidade do oxigênio e

dióxido de carbono nos PFC é baixa quando comparada com a difusibilidade do Nitrogênio atmosférico e há uma maior solubilidade e difusibilidade do CO₂ em até 5 vezes quando comparado com o O₂ (GOLLAN, F., et al., 1970).

Existem mais de 100 tipos de PFC produzidos atualmente, com mínimas variações entre suas propriedades e composição química (Tabela), sendo muitos destes utilizados em estudos experimentais e clínicos (FX-80, FC-75, FC-77, Caroxitina D, Caroxitina F, RM – 101, Perfluoro-octilbromido, Perfluorodecalina, etc) (HIRSCHL, R., et al., 1998, PATEL, M., et al., 1970, SAGA, S., et al., 1973, TUAZON, J., et al., 1973).

Os perfluorocarbonos apresentam baixa tensão superficial, não interferem nas propriedades dos surfactantes (MODELL, J., et al., 1970), além de exercerem papel protetor para os surfactantes e à membrana de revestimento alveolar (KYLSTRA, J., et al., 1972) (RUEFER, R., 1970). Ademais, agem também como carreadores de resíduos localizados dentro do alvéolo (CALDERWOOD, H., et al., 1973).

Tabela: Principais propriedades dos perfluorocarbonos mais utilizados em estudos experimentais (modificado de Shaffer et al, 1992)

	RM -101 ^a	Perfluorodecalina ^b	FC-75 ^c	FC 77 ^c	Perfluorobromido ^d
pressão de vapor 37° C (mmHg)	64	14	63	85	11
Densidade (25°C) g/ml	1,77	1,917	1,78	1,78	1,93
ponto de ebulição (°C)	101	142	102	97	143
Solubilidade de O ₂ , ml por 100 g de líquido	52	24.4	52	50	53
Solubilidade de CO ₂ ml por 100 g de líquido	160	93	160	198	210
Tensão superficial (dinas/cm 25°C)	15	17,6	15	15	18
Viscosidade (cinética - centistokes)	0,82	2,66	0,82	0,80	1,1

^a Miteni – Italia; ^b F2 Chemicals Ltda (Grã-Bretanha); ^c 3M Corp - EUA; ^d (LiquiVent) Alliance Pharmaceutical Corp - EUA

Os perfluorocarbonos quando utilizados em animais normais promovem alterações pulmonares reversíveis (MODELL, J., et al., 1971), cuja intensidade depende do tipo de perfluorocarbono utilizado (CALDERWOOD, H., et al., 1975, PATEL, M., et al., 1970, TUAZON, J., et al., 1973). Os PFC podem ser detectados nos pulmões por até 5 anos sem efeitos danosos ao organismo (CALDERWOOD, H., et al., 1975, HOOD, C., et al., 2000, MODELL, J., et al., 1976). A extensão da resposta é variável em cada pulmão e lobos pulmonares. A macroscopia mostra a presença de PFC nas porções dependentes da gravidade e as não dependentes apresentam ar no seu interior e consistência normal (MODELL, J., et al., 1971). A análise microscópica pode demonstrar áreas difusas de rompimento alveolar produzindo coalescência dos espaços alveolares, atelectasia focal parcial ou

completa(PATEL, M., et al., 1970, SHAFFER, T.,et al., 1974), reação neutrofílica focal aguda (MODELL, J.,et al., 1970), áreas de distensão de alvéolos e ductos alveolares (MODELL, J., et al., 1970, PATEL, M., et al., 1970), exsudato proteináceo intraalveolar; enfisema subpleural intersticial (MODELL, J., et al., 1970); dilatação de bronquíolos e presença de alveolite (PATEL, M., et al., 1970). Outros achados incluem hemorragia intra-alveolar focal, edema nos espaços perivasculares, com ou sem a presença de eritrócitos e células inflamatórias (BOREN, H., 1970), além da presença de neutrófilos na luz, em paredes de brônquios e espaços peribrônquicos (PATEL, M., et al., 1970). Macrófagos intra-alveolares com vacúolos contendo PFC no seu citoplasma desaparecem progressivamente com o decorrer do tempo após a ventilação líquida (HOOD, C., et al., 2000, TUAZON, J., et al., 1973).

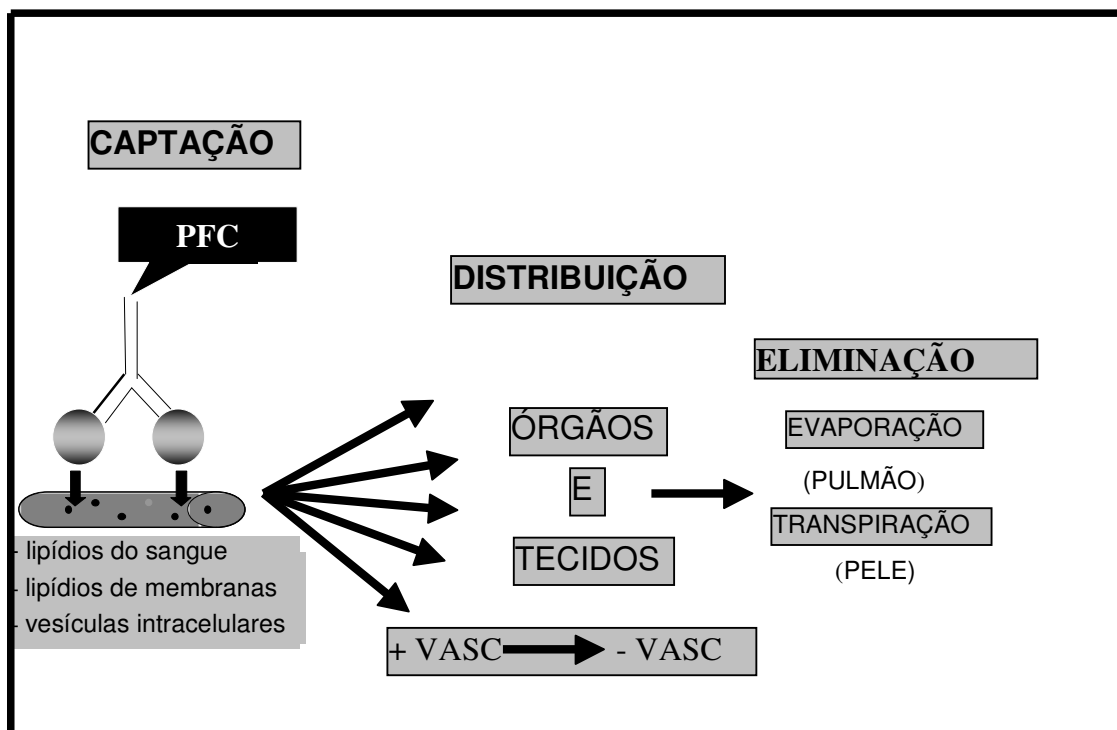
Outras aplicações tanto clínicas como experimentais incluem o uso de PFC como meio de contraste em exames radiológicos (THOMAS, S.,et al., 1997), como expansores plasmáticos (CLARK, L.,et al., 1970, GEYER, R., 1970, NOSÉ, Y.,et al., 1970, SLOVITER, H.,et al., 1970, WASCHKE, K.,et al., 1999), tratamento de pneumonias pela administração direta de antibióticos (FOX, W.,et al., 1997), administração direta de substâncias vasoativas em modelos de injúria pulmonar (WOLFSON, M.,et al., 1996), entre outras.

Durante a ventilação líquida, pequena quantidade de perfluorocarbono passa dos pulmões para a corrente sangüínea e desta para os órgãos e tecidos. A sua captação é diretamente proporcional a vascularização do órgão ou tecido, por exemplo, músculos e órgãos bem vascularizados, tais como o cérebro, ovário, rim e fígado, captam rapidamente o PFC mas não o armazenam, enquanto o tecido adiposo e os lipídios encontrados no sangue retém grande quantidade de

PFC (CALDERWOOD, H., et al., 1975, HOLADAY, D., et al., 1972, WOLFSON, M., et al., 1998). A sua velocidade de eliminação é de 20 minutos para os órgãos bem vascularizados, uma hora para o tecido muscular e 4 dias ou mais para o tecido adiposo depois da ventilação líquida. Os PFC não são metabolizados e ou excretados na urina (HOLADAY, D., et al., 1972), são eliminados pelos pulmões por evaporação (WEIS, C., et al., 2000) e pequena quantidade é eliminada pela pele por transpiração (CALDERWOOD, H., et al., 1975) (FIGURA 2). Não provocam alterações histológicas no fígado, baço, rim, coração ou cérebro (MODELL, J., et al., 1976), nem alterações bioquímicas e hematológicas que sugiram algum efeito deletério permanente ao organismo durante a VL. Ocasionalmente pode ocorrer um aumento transitório de fosfatase alcalina e colesterol que retornam aos níveis normais dentro de 1 semana. Há também aumento dos leucócitos, provavelmente pelo processo inflamatório agudo devido a irritação mecânica envolvida no processo de ventilação líquida (CALDERWOOD, H., et al., 1975). Embora o perfluorobromo não seja perigoso às vias aéreas, existem evidências *in vitro* que sugerem que este produto induz a um aumento da produção de mucina em vias aéreas normais (KISHIOKA, C., et al., 1999).

FIGURA 2

Desenho esquemático do metabolismo dos PFC no organismo



Legenda: Vasc – Vascularizado

Os estudos iniciais com ventilação líquida e perfluorocarbonos mostravam que este método era possível mas que apresentava limitações quanto a técnica de ventilação utilizada, pois havia um aumento da PaCO_2 e diminuição da PaO_2 durante a VL, que era reversível após os animais voltarem a respirar ar ambiente, mas era necessário no início deste período a suplementação com oxigênio (CLARK, L., et al., 1966, MODELL, J., et al., 1976, MODELL, J., et al., 1971, TUAZON, J., et al., 1973). A técnica utilizada na época baseava-se em imersão de pequenos animais no líquido ou em ventilação líquida por auxílio da gravidade, isto é, os animais eram entubados por via oro traqueal ou traqueostomizados e infundia-se um determinado volume de PFC oxigenado até preenchimento

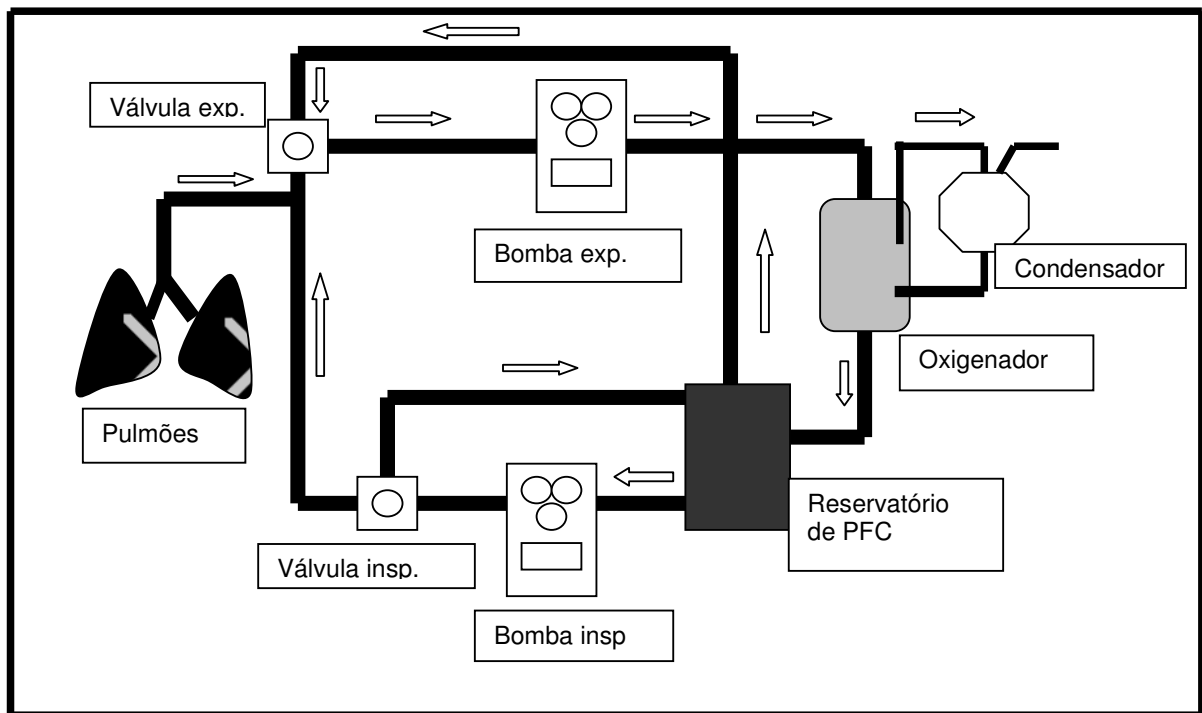
pulmonar e após isto, o líquido era drenado pela abertura do tubo orotraqueal, permitindo assim aproximadamente 4 a 5 movimentos respiratórios por minuto (MODELL, J., et al., 1970, TUAZON, J., et al., 1973). Outro problema observado com este método era uma redução na complacência pulmonar, que, após a retirada do líquido, retornava ao normal, voltando a cair depois de 24 horas, provavelmente por reação inflamatória. Ocorria também durante a ventilação líquida aumento na resistência das vias aéreas e hipoventilação (GOLLAN, F., et al., 1970, SAGA, S., et al., 1973).

A necessidade de melhorar-se a técnica de ventilação motivou Moskowitz (MOSKOWITZ, G., 1970) a desenvolver um modelo de ventilador líquido com controle de demanda, onde poderia ser regulada a frequência respiratória e o volume corrente de perfluorocarbono. Em 1974 Shaffer & Moskowitz (SHAFFER, T., et al., 1974) aperfeiçoaram este sistema e verificaram significativa melhora nas trocas gasosas e mais rápida recuperação dos animais após a ventilação líquida em comparação aos sistemas ventilatórios utilizados anteriormente. Posteriormente surgiram novos modelos e aperfeiçoamentos destes aparelhos, com funções e recursos semelhantes aos ventiladores convencionais utilizados atualmente nas unidades de tratamento intensivo (SEKINS, K., 1999). Estes aparelhos utilizam um sistema onde é necessário um ventilador especial cujo circuito ventilatório é preenchido por perfluorocarbono juntamente com a via aérea do paciente, substituindo-se completamente a interface ar-água por uma superfície de troca gasosa veiculada pelo composto líquido. Este método é conhecido atualmente como ventilação líquida total (VLT) (FIGURA 3) (HIRSCHL, R., et al., 1995).

Utilizando ventilação líquida total Lowe et al demonstraram que a acidose encontrada durante a ventilação líquida, não se devia às altas concentrações de CO_2 (MODELL, J., et al., 1970), e sim resultava das altas concentrações de lactato encontradas no sangue. Também observou-se neste trabalho uma significativa diminuição do débito cardíaco e do volume sistólico e aumento significativo na resistência periférica total (LOWE, C., et al., 1979). Outro achado muito importante foi de que os perfluorocarbonos aumentam a resistência vascular pulmonar e que, durante a ventilação líquida total, ocorre uma redistribuição do fluxo sanguíneo em direção as áreas pulmonares não dependentes da gravidade, e que este aumento na resistência vascular pulmonar é observado nas zonas dependentes devido a um aumento da pressão alveolar pelo PFC dentro do alvéolo (LOWE, C., et al., 1986). Koen et al em 1988 demonstraram que, para efetuar uma ventilação ideal com PFC em sistema de ventilação líquida total, deveria se reduzir a frequência respiratória (3-5 cpm), aumentando o tempo inspiratório para melhor difusão, e, conseqüentemente, maior troca de CO_2 , normalizando os níveis de PaCO_2 .

FIGURA 3

Representação esquemática de sistema de ventilação líquida total.



Legenda: O perfluorcarbono oxigenado é armazenado em um reservatório onde através de uma bomba inspiratória este é entregue aos pulmões. No final no ciclo inspiratório abre-se uma válvula expiratória e com auxílio de uma bomba expiratória o PFC é reoxigenado e retorna ao seu reservatório. O PFC que é evaporado durante o ciclo inspiratório sofre condensação e em seu estado líquido é oxigenado e enviado ao reservatório de PFC.

Fuhrman em 1990 (FUHRMAN, B., et al., 1991) testou um novo método de ventilação líquida em porcos normais, onde um volume de perfluorocarbono líquido, igual a capacidade residual funcional, era instilado diretamente na traquéia para dentro dos pulmões, participando assim diretamente das trocas gasosas, utilizando um ventilador mecânico convencional regulado a volume. Neste método o perfluorocarbono era oxigenado *in vivo*, diferente dos outros

métodos onde o PFC era inicialmente oxigenado e o CO₂ removido fora do corpo e ciclicamente entregue aos pulmões. Durante o ciclo respiratório, havia a permanência de ar residual dentro dos alvéolos, o qual participava na troca gasosa, mesmo durante a expiração, uma vez que o alvéolo mantinha-se aberto (FIGURA 4). Este tipo de ventilação não resultava em alteração significativa da relação ventilação/perfusão pulmonar, havia uma pequena diminuição da PaO₂, mas seus valores permaneciam nos níveis normais, não ocorrendo alteração significativa na diferença alvéolo/arterial de oxigênio, quando comparada com a ventilação convencional. Inicialmente este método foi denominado de Troca Gasosa Associada a Perfluorocarbono (TGAPFC), e atualmente é conhecido como Ventilação Líquida Parcial (VLP).

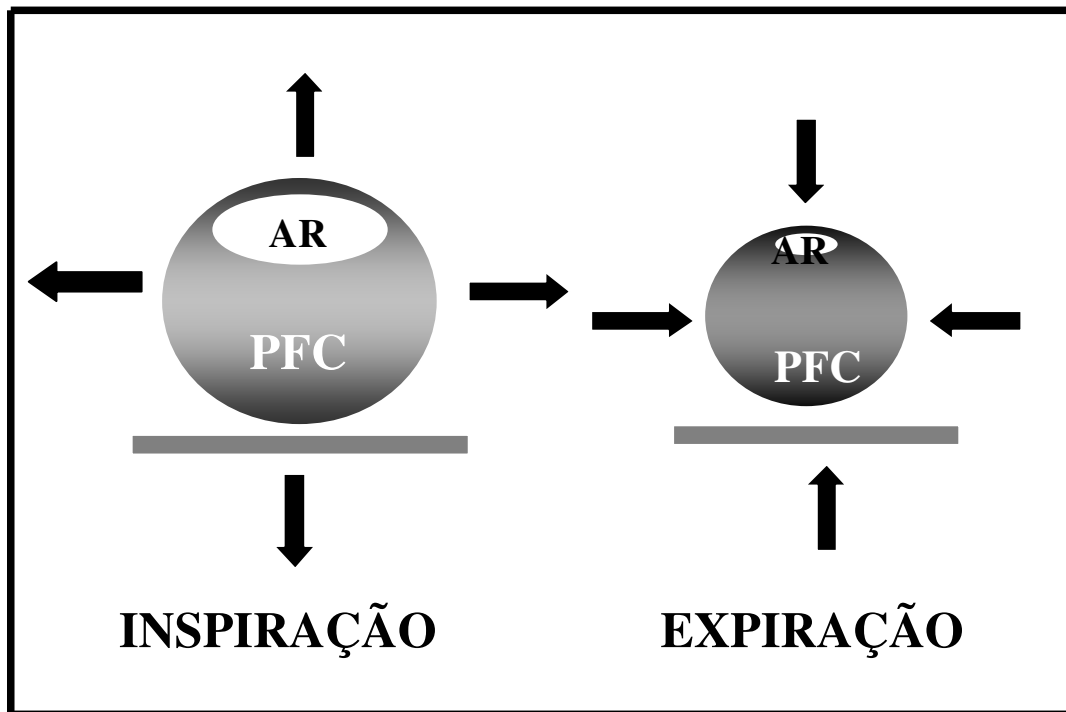
Na VLP há um pequeno aumento da resistência inspiratória final das vias aéreas pela presença do líquido, sendo necessário uma maior pressão nas vias aéreas para deslocamento da coluna de líquido. Observa-se também um discreto aumento da complacência pulmonar e não parece haver alteração da função pulmonar durante a ventilação líquida, bem como no retorno a respiração com ar ambiente depois da drenagem do líquido apesar da completa opacificação dos campos pulmonares visualizada ao radiograma de tórax (FUHRMAN, B., et al., 1991).

Durante a ventilação líquida parcial, não se observam alterações significativas das pressões arterial pulmonar, atrial esquerda, e pressões de vias aéreas. O que ocorre é uma redistribuição do fluxo pulmonar para as zonas pulmonares não dependentes da gravidade (GAUGER, P., et al., 1997, LOER, S., et al., 1998, LOER, S., et al., 2000).

A ventilação líquida parcial pode ser realizada em animais acordados e respirando espontaneamente (RICH, P., et al., 1999). Em animais normais pode ser utilizada uma FiO_2 abaixo de 1.0 sem prejuízo da troca gasosa ou alterações hemodinâmicas (HERMAN, L., et al., 1995). No entanto, quando a ventilação líquida parcial é comparada a ventilação convencional utilizando os mesmos parâmetros ventilatórios em animais normais, pode ocorrer uma diminuição na eficiência nas trocas gasosas e um aumento da heterogeneidade da relação ventilação/perfusão (MATES, E., et al., 1997).

FIGURA 4

Desenho esquemático do mecanismo da ventilação líquida parcial a nível alveolar.



Legenda: presença de ar no interior dos alvéolos durante a inspiração e expiração, demonstrando a interface ar-alvéolo-PFC. Manutenção da estrutura alveolar durante a expiração.

3.3.1. Ventilação Líquida e SARA

Com a introdução da ventilação líquida parcial iniciaram-se vários estudos sobre o efeito deste novo método na síndrome da angústia respiratória aguda, já que nesta síndrome há uma deficiência de surfactante pulmonar, com aumento da tensão superficial levando ao colapso alveolar, resultando em redução na capacidade residual funcional e extravasamento de líquido para o interior dos alvéolos por destruição da membrana alvéolo capilar (SACHDEVA, R., et al., 1997).

Como a ventilação líquida parcial possui efeito tanto na manutenção da estrutura como na função alveolar foi demonstrado em diferentes modelos de injúria pulmonar que este método melhora a troca gasosa, aumenta a complacência pulmonar e não possui efeito na resistência vascular pulmonar (LEACH, C., et al., 1993, ALY, H., et al., 1997) ou alterações no débito cardíaco (CARDOZO, R., et al., 2000). A VLP quando comparada com ventilação convencional apresenta impacto positivo na sobrevida e melhora da arquitetura pulmonar, com redução das alterações histológicas e morfológicas em modelos de injúria pulmonar aguda (HIRSCHL, R., et al., 1995, QUINTEL, M., et al., 1998).

O PFC pode recrutar e preservar a capacidade residual funcional apesar da injúria pulmonar induzida por anormalidades da tensão superficial, tais como síntese reduzida e inativação de surfactante. Este modo ventilatório pode reduzir o risco de injúria pulmonar secundária a ventilação mecânica convencional (barotrauma) e é capaz de reduzir o edema pulmonar (RICARD, J., et al., 2000), hemorragia e inflamação (PAPO, M., et al., 1996). Além disto o perfluorocarbono funciona como meio de limpeza de debris e resíduos celulares intra-alveolares (CALDERWOOD, H., et al., 1973, GAUGER, P., et al., 1997). Apesar destas

características, existem estudos como o de Lange et al (LANGE, N.,et al., 2000) que não demonstram diminuição na permeabilidade vascular pulmonar com uso de perfluorocarbono durante VLP por um período de observação de 21 horas.

Estudos de ventilação líquida parcial em modelo de injúria pulmonar em ovelhas adultas (OVERBECK, M.,et al., 1996), confirmaram a eficiência da VLP na troca gasosa e mecânica respiratória, sem comprometer o funcionamento do ventilador, quando grandes quantidades de PFC foram utilizadas. A utilização de FiO_2 com valores entre 1 a 0,5, não demonstra alteração significativa na troca gasosa em alguns modelos de injúria pulmonar, apesar da grande maioria dos estudos de ventilação líquida parcial utilizarem FiO_2 de 1 (HERMAN, L.,et al., 1996).

Existem evidências que doses menores de PFC do que a capacidade residual funcional durante ventilação líquida parcial em modelos de SARA podem ser utilizadas com boa preservação da mecânica ventilatória (TÜTÜNCÜ, A.,et al., 1993) e que dever-se-ia levar em consideração a extensão da doença e o local da injúria pulmonar para o ajuste da dose (LIM, C.,et al., 2000).

Estudos comparando VLP com a ventilação líquida total em modelos de SARA demonstraram que ambos métodos além de melhorar a complacência pulmonar em quadro de atelectasia, também melhoram o recrutamento alveolar (TOOLEY, R.,et al., 1996). Durante a VLT há uma distribuição mais uniforme do PFC, diferentemente da VLP, a qual pode apresentar uma exagerada distensão do terço superior do pulmão, pela distribuição irregular, resultando eventualmente em pneumotórax (TARCZY-HORNOCH, P.,et al., 2000). A ventilação líquida total aumenta significativamente o débito cardíaco esquerdo, pressão arterial sistêmica e pressão de perfusão quando comparado à VLP (DEGRAEUWE, P.,et al., 2000).

O termo injúria pulmonar aguda refere-se a uma alteração aguda na função pulmonar, tipicamente relacionada a troca gasosa, pelo acúmulo anormal de água ou soluto nos espaços aéreos. Este desarranjo funcional é identificado histologicamente como dano alveolar difuso e, é o resultado de alterações estruturais na unidade alvéolo capilar. A injúria da membrana alvéolo-capilar rompe a barreira endotelial, evoluindo para o desenvolvimento de edema pulmonar não cardiogênico através do aumento da permeabilidade vascular. Uma vez que os espaços aéreos preenchem-se com líquido, a troca gasosa e propriedades mecânicas dos pulmões se deterioram. Quando a injúria é severa, as manifestações clínicas são aquelas da SARA.

Durante a SARA os neutrófilos pulmonares exibem um estado de ativação funcional que é indicado pelo aumento da atividade quimioluminescente, aumento da geração de radicais superóxido e alterações na quimiotaxia (KOLEFF, M., et al., 1995, MATTHAY, M., 1999, SACHDEVA, R., et al., 1997).

A produção de espécies ativas de oxigênio por neutrófilos e macrófagos ativados tem sido associada a injúria pulmonar aguda. Os radicais livres desempenham importante papel na produção da injúria tecidual através da peroxidação lipídica da membrana celular e componentes citoplasmáticos, neutralização das antiproteases, aumento da permeabilidade capilar e geração de fatores quimiotáticos tais como metabólitos do ácido araquidônico. O somatório destes eventos levam ao desenvolvimento de SARA (REPINE, J., et al., 1987, SMITH, T., et al., 1995).

Os PFC *in vitro*, têm efeito sobre a função dos macrófagos alveolares, diminuindo a liberação de radicais livres (SMITH, T., et al., 1995) e atenuando o dano oxidativo ao tecido pulmonar (ROTTA, A., et al., 2000, STEINHORN, D., et

al., 1999, STEINHORN, D., et al., 1996). Reduzem a leucocitose precoce pulmonar após injúria pulmonar aguda (pela redução de infiltração de neutrófilos) (ROTTA, A., et al., 1998), atenuam a adesão de neutrófilos nas células endoteliais (WOODS, C., et al., 2000) e diminuem significativamente a secreção de FNT- α , IL-1, IL-6 e IL-8 (BABA, A., et al., 2000) de macrófagos estimulados com lipopolisacarídeos in vitro (THOMASSEN, M., et al., 1997). Emulsões de perfluorocarbonos reduzem a produção de radicais livres e impedem a fagocitose por neutrófilos em estudos de injúria de reperfusão isquêmica em miocárdio, limitando a zona de injúria e infarto (FORMAN, M., et al., 1992)

A VLP limita o aumento da permeabilidade da membrana alvéolo-capilar, podendo assim auxiliar na manutenção de adequada compartimentalização das citocinas dentro dos alvéolos, reduzindo também a resposta sistêmica a injúria pulmonar. Os PFC também possuem efeito anti-inflamatório indireto através da formação de uma barreira protetora no epitélio que reveste as vias aéreas e os alvéolos a quaisquer agentes nocivos (ou citocinas inflamatórias) presentes nos espaços alveolares (BABA, A., et al., 2000, KAWAMAE, K., et al., 2000)

3.3.2. Modos ventilatórios e ventilação líquida parcial

Historicamente, a pressão positiva expiratória final (PEEP) tem sido utilizada para estabilizar o recrutamento alveolar, melhorando a hipoxemia, complacência pulmonar e a relação ventilação/perfusão em síndrome da angústia respiratória aguda. Recentemente a ventilação líquida parcial com perfluorocarbono tem sido uma alternativa para a ventilação mecânica convencional no manejo da SARA (HIRSCHL, R., et al., 1995, QUINTEL, M., et al., 1998).

Os perfluorocarbonos funcionam como uma PEEP líquida, por manterem os alvéolos abertos durante a injúria pulmonar, com resultante melhora das trocas gasosas e da complacência pulmonar. A partir de 1998 iniciaram-se estudos para verificar a melhor estratégia de ventilação líquida parcial e o valor de PEEP a ser utilizado para a troca gasosa ideal sem efeitos deletérios ao organismo.

Kirmse et al (KIRMSE, M., et al., 1998) estudaram diferentes níveis de PEEP regulados pelo ponto de inflexão inferior (Pflex-inf) da curva pressão-volume (P-V) em modelo animal de injúria pulmonar. Observaram que a administração de PFC desvia o Pflex-inf da curva P-V para a esquerda de uma maneira dose dependente, e que o ajuste de PEEP com 1cmH₂O acima do Pflex-inf em doses entre 15 a 30 ml/kg de PFC maximiza a oxigenação e mecânica ventilatória pulmonar sem outros efeitos mecânicos adversos.

Zobel et al (ZOBEL, G., et al., 1999) também estudaram as variações de PEEP durante a VLP, mas sem a utilização do ponto de inflexão inferior da curva P-V e verificaram que, quanto maior o PEEP, melhor a troca gasosa e mecânica pulmonar. Entretanto, observaram que uma PEEP acima de 15 cmH₂O resultava em diminuição do débito cardíaco e subsequente comprometimento hemodinâmico.

Fujino et al (FUJINO, Y., et al., 1999) ao compararem altos e baixos níveis de PEEP com VLP controlada a pressão e VLP controlada a volume e várias relações I:E (inspiratória/expiratória) em modelo experimental de injúria pulmonar, observaram melhora nas trocas gasosas e na mecânica ventilatória pulmonar com PEEP selecionada pelo Pflex-inf, sem levar em consideração o modo ventilatório ou a relação I:E, apesar de quando utilizada uma PEEP de 5 cmH₂O o ajuste na relação I:E era importante para melhorar as trocas gasosas. O mesmo grupo

também demonstrou que a ventilação líquida parcial controlada a volume com relação I:E de 1:1 e com PEEP ajustada a 1 cmH₂O acima do Pflex-inf resultava em melhora dos parâmetros ventilatórios e preservação da arquitetura pulmonar quando comparada a ventilação convencional ajustada com os mesmos parâmetros, muito embora não houvesse diferença significativa na PaO₂ (FUJINO, Y., et al., 2000).

Outros métodos alternativos de ventilação associados a ventilação líquida parcial também têm sido estudados, tais como ventilação em posição prona (Max, M., et al., 1999), ventilação oscilatória com altas frequências (DOCTOR, A., et al., 1999), todas demonstrando bons resultados preliminares. O óxido nítrico associado a ventilação líquida parcial, potencializa os efeitos dos perfluorocarbonos durante a VLP, melhorando a troca gasosa em modelo de injúria pulmonar (UCHIDA, T., et al., 1998), entretanto quando associado a PEEP mais elevada (15 cmH₂O) não apresenta melhora adicional na oxigenação (MAX, M., et al., 2000).

3.3.3. Aplicação clínica da ventilação líquida parcial

A primeira descrição do uso de ventilação líquida em humanos ocorreu em 1989, quando Greenspan (GREENSPAN, J., et al., 1989) relatou um caso de recém nascido prematuro com 28 semanas que, após todas tentativas de ventilação com os métodos disponíveis (ventilação convencional, com alta frequência e uso de surfactante), optaram por ventilação com perfluorocarbono, o qual foi instilado de acordo com a capacidade residual funcional (30 ml/kg) e com ventilações intermitentes (alternado períodos de ventilação líquida total com ventilação convencional). Neste caso durante a ventilação líquida houve aumento

da PaO_2 e diminuição da PaCO_2 , que se mantiveram até duas horas após o procedimento. Observou-se também um aumento na complacência pulmonar e diminuição na resistência das vias aéreas. Não obstante, a criança falecera 19 horas após o uso da ventilação líquida.

No ano seguinte os mesmos autores (GREENSPAN, J., et al., 1990) relataram mais 3 casos de ventilação com perfluorocarbono, em condições semelhantes às do relato inicial e também com resultados semelhantes, confirmando o PFC como um método alternativo de ventilação para os pulmões de neonatos. Este estudo incentivou o início de protocolos clínicos.

Leach et al (LEACH, C., et al., 1996) publicaram sobre o uso de ventilação líquida parcial em 13 recém nascidos, tendo verificado que 8 crianças sobreviveram até 36 semanas. As principais complicações relacionadas ao uso da VLP foram a obstrução do tubo endotraqueal com secreção mucóide e episódios transitórios de hipoxemia. Observaram melhora da complacência, diminuição da PaCO_2 e aumento da PaO_2 . Observou-se também que a presença de PFC circulante no sangue reduzia-se gradativamente, mas que ainda estava presente após 28 dias da última dose de PFC. Estas grandes variações nos níveis sangüíneos de PFC segundo Greenspan et al (GREENSPAN, J., et al., 1997) poderiam estar relacionadas a várias causas, como as diferentes doses de PFC utilizadas, e ao conteúdo lipídico do sangue. Em radiogramas de tórax de controle, foi observada a presença de PFC em graus variáveis até 3 semanas após a última dose. Este relato demonstrou que a VLP resultava em melhora clínica e prolongava a sobrevida em recém nascidos com severa disfunção respiratória (LEACH, C., et al., 1996). Gauger (GAUGER, P., et al., 1996) em 1996 em seu trabalho utilizando ventilação líquida em 6 crianças submetidas a

membrana de oxigenação extra corpórea (MOEC), demonstrou que pneumotórax era uma complicação potencialmente associada a VLP e que todos os pacientes estudados sobreviveram.

Hirschl et al (HIRSCHL, R., et al., 1995) em 1995 estudaram 10 pacientes adultos, 4 crianças e 5 recém nascidos que foram submetidos a MOEC. Observaram diminuição do $(A-a)DO_2$, aumento da complacência pulmonar, pneumotórax, extravasamento de líquido para o espaço pleural e formação de tampões mucosos. Ocorreram complicações que não pareciam estar relacionadas com a VLP, mas sim com a MOEC, tais como sangramento, hiperbilirrubinemia, insuficiência renal e morte cerebral. Não obstante, 11 pacientes sobreviveram e mantiveram-se bem até 12 meses de acompanhamento. No ano seguinte, os mesmos autores publicaram o primeiro estudo com ventilação líquida parcial somente em pacientes adultos que foram submetidos a MOEC como última alternativa para tratamento de SARA. Os autores analisaram 10 pacientes e a sobrevida foi de 50%. Este estudo mostrou a capacidade de administrar seguramente PFC dentro dos pulmões e sustentar a troca gasosa em pacientes com severa falência respiratória. Não houve comprometimento hemodinâmico e aumento da resistência vascular pulmonar. As complicações observadas durante a VLP foram a formação de tampões mucosos, pneumotórax em 5 pacientes e sangramento em seis. O extravasamento de PFC para a pleura foi observado em 2 pacientes, desaparecendo lentamente sem evidência de efeitos nocivos. A presença de PFC nos alvéolos foi observada à radiologia por uma média de 23 dias (5-38 dias) depois da dose final de PFC. A lenta evaporação do PFC provavelmente era resultado de um substancial número de regiões pulmonares que eram pobremente ventiladas. Os pacientes foram acompanhados através de

protocolos clínicos para identificação de processos pneumônicos, entretanto nenhum dos pacientes desenvolveu sinais e sintomas clínicos de pneumonia após o uso de VLP por períodos de 16 a 21 meses (HIRSCHL, R., et al., 1996).

Os mesmos autores (HIRSCHL, R., et al., 1998) também publicaram o primeiro estudo de ventilação líquida parcial em adultos com SARA que não necessitaram MOEC, com bons resultados em 9 pacientes submetidos a este tipo de ventilação. Não foram detectadas anormalidades hematológicas, nos eletrólitos, função renal, hepática e não foram observados efeitos adversos dos PFC após 1 ano de seu uso. Sete dos nove pacientes sobreviveram além de 28 dias depois da VLP e 5 pacientes receberam alta hospitalar. Estes são os primeiros dados disponíveis para avaliar a eficácia e segurança da ventilação líquida parcial com perfluorocarbonos em pacientes adultos com SARA que não haviam sido submetidos a membrana de oxigenação extra corpórea, sendo portanto completamente dependentes da VLP para as trocas gasosas.

Reickert et al (REICKERT, C., et al., 2001) analisaram a taxa de eliminação pulmonar de PFC durante a ventilação líquida parcial e também no sangue de 18 pacientes adultos com SARA. Sugeriram que o perfluorobromido seria eliminado através de evaporação pelas vias aéreas na taxa inicial de 13.6 ± 4.5 ml/h. Após a administração da última dose de PFC, os níveis de gás expirado diminuíram a níveis mínimos durante as 48 horas seguintes. O perfluorocarbono permaneceu por períodos mais longos de tempo nas regiões dependentes dos pulmões quando comparado com as regiões não dependentes. A concentração sérica de PFC era $0,26 \pm 0,05$ mg/dl no momento da última dose de perfluorobromo e somente diminuía de uma maneira não significativa durante 8 dias.

3.3.4. Ventilação líquida e transplante pulmonar

O primeiro estudo empregando perfluorocarbono como solução de preservação pulmonar foi publicado em 1970 por Lowestein et al (LOWESTEIN, E., et al., 1970). Os autores ventilaram pulmões excisados com um tipo de perfluorocarbono (FX-80) por 4 horas a temperatura ambiente e os compararam com pulmões colapsados e preservados em solução salina. Verificaram uma excelente resposta dos pulmões ventilados com perfluorocarbono em relação aos controles após o transplante pulmonar, entretanto este estudo apresenta várias limitações, sobretudo com relação à preservação utilizada no grupo controle. A nítida vantagem do FX-80 com relação ao grupo controle, provavelmente foi a prevenção do colapso alveolar não podendo então ser avaliada qualquer relação com a função de oxigenação dos PFC (LOWESTEIN, E., et al., 1970). Nesta mesma época os perfluorocarbonos também foram testados como solução de preservação para outros órgãos sólidos, tais como fígado (TRINER, L., et al., 1970) e rins (BEISANG, A., et al., 1970) também sem resultados consistentes.

Mais tarde, apesar do desenvolvimento de novas técnicas de preservação pulmonar, persistiam os problemas relativos à injúria de reperfusão, mormente no pós operatório precoce dos transplantes pulmonares (ADOUMIE, R., et al., 1992), motivo pelo qual, esforços foram voltados para este problema. Novick, et al. em 1994 utilizaram surfactante exógeno em modelo animal de transplante pulmonar com bons resultados. Posteriormente, Buchanan et al. em 1996, utilizaram surfactante exógeno em modelo de transplante pulmonar em coelhos e verificaram que sua aplicação melhorava alguns dos efeitos da injúria de reperfusão.

O uso do surfactante exógeno consiste hoje em uma modalidade bem estabelecida de tratamento da injúria pulmonar em neonatos com síndrome da angústia respiratória. Neste tipo de síndrome o surfactante melhora a complacência pulmonar e a troca gasosa, reduzindo significativamente a morbidade e mortalidade destas crianças. Estes resultados encorajadores produziram intenso interesse no potencial papel do surfactante no manejo de outras doenças pulmonares caracterizadas por desarranjos semelhantes na troca gasosa e complacência. Sendo assim, o uso de surfactantes foi introduzido em estudos sobre injúria de reperfusão após transplante pulmonar (KLEPETKO, W., et al., 1990, NOVICK, R., et al., 1994), devido as suas alterações clínicas e patológicas semelhantes a SARA (VELDHUIZEN, R., et al., 1993).

Os perfluorocarbonos apresentam características comuns aos surfactantes, tais como a sua baixa tensão superficial. Além de não interferirem com as propriedades dos surfactantes (MODELL, J., et al., 1970), os PFC têm papel protetor, protegendo a destruição dos surfactantes por agentes externos (KYLSTRA, J., et al., 1972, RUEFER, R., 1970). Em modelos animais de deficiência ou disfunção de surfactante a VLP com PFC pode aumentar a síntese e secreção de surfactante (STEINHORN, D., et al., 1996). Na década de 90 surgiram estudos comparando o uso de surfactantes e perfluorocarbonos ou a associação destes em modelos de injúria pulmonar (LEACH, C., et al., 1995, MROZEK, J., et al., 1999, STEINHORN, D., et al., 1996). Leach et al em 1995 verificaram melhora da sobrevida, dos padrões ventilatórios e de troca gasosa com ambos os métodos, bem como com a associação destes em modelo de injúria pulmonar em animais, mas com superioridade da VLP em relação ao surfactante exógeno. Mrozek et al em 1997 observaram melhores resultados

histopatológicos e funcionais quando, durante a associação entre estes métodos, o surfactante era administrado antes do perfluorocarbono, provavelmente porque o PFC melhora a distribuição do surfactante previamente administrado e também pela diferença de densidade que faz com que o surfactante se mantenha nos alvéolos mantendo a tensão superficial.

Diferentes estratégias de ventilação com VLP e surfactante tem sido testadas (MERZ, U., et al., 2000, WOLFSON, M., et al., 1998), com bons resultados nas trocas gasosas e mecânica pulmonar. Sendo os efeitos protetores dos PFC dependentes da dose e estratégia ventilatória (WOLFSON, M., et al., 1998). Como esses modelos utilizavam períodos de observação de até 5 horas, Merz et al (MERZ, U., et al., 2000) realizaram experimento semelhante com duração de 24 horas, onde verificaram melhora inicial com associação entre PFC e surfactante, que manteve-se constante durante as 12 primeiras horas, piorando progressivamente a troca gasosa até o final do experimento. Estes achados demonstram que existe a necessidade de novos estudos e melhor compreensão sobre a associação entre estas 2 substâncias.

Em 1999 Itano et al utilizaram pela primeira vez ventilação líquida parcial com perfluorocarbono com o objetivo de reduzir a injúria de reperfusão após transplante pulmonar. Utilizaram um modelo canino de transplante pulmonar com tempo de isquemia hipotérmica de 18 horas e período de observação de 360 minutos após reperfusão do enxerto. Utilizando PFC, verificaram que havia um aumento significativo da PaO_2 no grupo que fora submetido a VLP, não havendo diferença significativa em relação a $PaCO_2$. A diferença alvéolo-arterial e a relação ventilação/perfusão foram significativamente menores no grupo com VLP. Não houve diferença entre os 2 grupos com relação a PAM e a resistência

vascular pulmonar. A atividade da mieloperoxidase, que reflete a atividade dos neutrófilos, diminuiu no grupo com VLP em relação ao controle, embora não houvesse diferença estatisticamente significativa. A histopatologia mostrou redução na congestão vascular pulmonar, hemorragia vascular, acúmulo de líquido alveolar proteináceo e infiltração inflamatória no grupo com VLP em comparação ao grupo controle (ventilação convencional).

Com o objetivo de preservar o sistema de surfactante, melhorar a função do enxerto pulmonar, como também permitir um período mais longo de armazenamento, Loehe et al (LOEHE, F., et al., 2000) utilizaram um modelo de transplante pulmonar em porcos com período de isquemia hipotérmica de 18 horas. Dois grupos foram estudados: no primeiro, os animais foram submetidos a perfusão retrógrada com LPD (Low K^+ Dextran) e prostaciclina; no segundo grupo receberam aproximadamente 200 ml de perfluorodecalina a 4° C sem serem submetidos a administração da solução de preservação. Verificaram que a PaO_2 era menor no grupo com PFC mas não apresentava diferença significativa após 4 horas de reperfusão. A $PaCO_2$ foi significativamente mais alta no grupo com PFC. Não houveram diferenças significativas na complacência pulmonar e pressão de pico de vias aéreas. A relação peso úmido/seco foi significativamente maior no grupo preservado com PFC, demonstrando a presença de edema. Os autores demonstraram assim, que, a preservação em longos períodos, utilizando-se PFC administrado endobronquicamente é possível, entretanto os resultados revelaram uma menor recuperação do enxerto quando comparado com o grupo perfundido com LPD (LOEHE, F., et al., 2000).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Animais doadores

Cães doadores adultos (n=12), pesando em média 21 kg, foram submetidos a punção de veia periférica e a anestesia induzida com tiopental sódico a 2,5% (10-15 mg/kg EV). Os animais foram então intubados por via orotraqueal e ventilados mecanicamente (ventilação controlada a volume-VCV) com os seguintes parâmetros: $FiO_2=1.0$; volume corrente=20 ml/kg/min; FR=20 cpm; relação I:E:1:2; PEEP 5 cmH₂O. Para tal foi utilizado um ventilador Servo 900-C (Siemens Elema- Suécia). A seguir, foi coletada amostra de sangue arterial por punção da artéria femoral direita para análise de gases sanguíneos basais dos doadores (aparelho de gasometria ABL 5, Radiometer-Suécia). Foram selecionados os animais doadores cuja gasometria demonstrara uma PaO_2 igual ou superior a 500 mmHg nas condições acima descritas. A seguir os cães foram anticoagulados (heparina 5 mg/kg EV), e sacrificados com dose letal de tiopental sódico (65 mg/kg, EV). Após constatada a morte por parada cardio-circulatória através de minitoracotomia direita, os animais foram mantidos em ventilação mecânica a temperatura ambiente, com os mesmos ajustes do ventilador por 180 minutos

Aproximadamente 30 minutos antes de completar o período de isquemia quente, foi realizada uma esternotomia mediana com exposição do tronco da artéria pulmonar, átrio esquerdo via intrapericárdica, traquéia retropericárdica e veias cavas. Após oclusão das cavas, os pulmões dos animais foram perfundidos por via retrógrada com solução de Perfadex[®] (Pharmacia-Suécia) (50ml/kg) a 4°C administrada por canulação do átrio esquerdo com drenagem por incisão no

tronco da artéria pulmonar, como descrito por Kohmann et al (KOHMANN, J., et al., 1999)(FIGURA 5). A pressão de perfusão de 35cmH₂O foi obtida por elevação do frasco de perfusão. Não foram utilizados vasodilatadores pulmonares. Ao término da perfusão, as veias cavas, aorta ascendente e traquéia foram seccionadas, sendo os pulmões extraídos em bloco com o coração e acondicionados imersos em solução salina à 4°C (FIGURA 6). Após um período de isquemia hipotérmica de 3 horas, o pulmão esquerdo foi dissecado e preparado para ser transplantado no receptor (FIGURA 7).

Animais receptores

Os animais receptores (n=12), foram submetidos a indução anestésica com tiopental sódico a 2,5% (10 a 15 mg/kg EV), sendo intubados por via orotraqueal e ventilados mecanicamente em VCV seguindo os mesmos parâmetros e utilizando o mesmo ventilador descritos anteriormente para os doadores. A seguir foram administrados fentanil (2 mcg/Kg EV) e pancurônio (0,2 mg/Kg EV). Foram isoladas e cateterizadas a artéria e veia femorais, para monitorização contínua de pressão arterial média, coleta de sangue arterial, e colocação de catéter de Swan-Ganz (Edwards Swan-Ganz, cateter de termodiluição, 4 Fr, 50 cm, Baxter – Edwards, Irvine, CA), respectivamente. O correto posicionamento do catéter de Swan-Ganz foi confirmado pela análise das curvas de pressão e posteriormente verificado pela inspeção visual, durante a cirurgia. Os catéteres na artéria femoral e pulmonar foram conectados a um monitor de pressões de dois canais (Medscope, Instramed - Porto Alegre – RS).

Passados 15 min para estabilização dos parâmetros hemodinâmicos e ventilatórios, foram obtidos os dados hemodinâmicos basais (PAM, PMAP), gases

arteriais e dados de mecânica ventilatória (PPLAT, PPI e Cst). A manutenção da anestesia foi realizada com infusão de tiopental (5 mg/kg/hora), fentanil (0,1 µg/kg/min), e pancurônio, na dose de 2 mg/hora.

A medida da PPLAT foi obtida através de tempo de pausa inspiratória de 5 segundos e registrado através do transdutor do ventilador. Estes dados foram semelhantes aos observados em monitor de mecânica ventilatória (Tracer 5, Intermed – São Paulo - SP) com sensor conectado na saída do tubo orotraqueal. A complacência estática foi medida pela equação: $VT \text{ expirado} / (PPLAT - PEEP)$ e representada em ml/cmH₂O.

Técnica do transplante pulmonar unilateral esquerdo

Os animais receptores foram submetidos a toracotomia póstero-lateral esquerda, seguida de pneumonectomia esquerda com isolamento de artéria pulmonar e árvore brônquica direita (FIGURA 8). Cerca de 15 minutos após o clampeamento da artéria pulmonar esquerda, foram realizadas novas medidas. O enxerto (pulmão esquerdo do doador) foi implantado, utilizando-se técnica previamente descrita (JONES, M., et al., 1988, KESHAVJEE, S., et al., 1989, KOHMANN, J., et al., 1999) (FIGURA 9). Ao completarem-se as anastomoses o pulmão transplantado foi reperfundido por abertura dos clampes vasculares, tendo sido aguardados 15 minutos para a estabilização, sendo coletados novos dados hemodinâmicos/ventilatórios/hemogasometria. A seguir, a artéria pulmonar direita e os brônquios principal direito e do lobo superior direito, foram ligados transferindo-se assim a totalidade do débito ventricular direito para o pulmão transplantado. Cerca de 15 minutos após estas manobras, novas medidas

hemodinâmicas/ventilatórias/hemogasometria foram obtidas. Nesse momento, os animais foram randomizados e divididos em 2 grupos (n=6 cada). À saber:

- grupo I (controle): ventilação mecânica convencional
- grupo II (ventilação líquida parcial com perfluorocarbono).

Procedeu-se com a síntese da parede torácica por planos e, após, os cães foram colocados em decúbito dorsal.

Trinta minutos após as últimas medidas, já com o animal em decúbito dorsal e iniciando-se a instilação de perfluorocarbono, foram registradas novas medidas dos parâmetros de monitorização ventilatória, hemodinâmica e gases arteriais. Este procedimento foi repetido a cada 30 minutos por um período de 6 horas até o sacrifício.

Os animais, do grupo I (controle), foram submetidos a ventilação mecânica segundo os parâmetros já descritos durante todo o período do estudo.

Os animais, do grupo II receberam 15ml/kg de Perfluorodecalin[®] (F2 Chemicals-UK) através de conector lateral ao tubo orotraqueal (FIGURA 10), com pressão de 40 cmH₂O (determinada pela altura do frasco em relação a mesa cirúrgica) com uma duração de preenchimento de cerca de 30 min, ou até formar-se um menisco líquido no tubo orotraqueal. Foi mantida uma instilação de PFC (1 ml/Kg/hora), para compensar a perda por evaporação.

Quando necessário, foram realizados ajustes na frequência respiratória em ambos os grupos com objetivo de manter uma PaCO₂ abaixo de 40 mmHg.

A reposição de volume foi feita através da administração endovenosa de solução de Ringer com lactato (100ml/hora). A correção da acidose metabólica foi realizada com solução de bicarbonato de sódio 8,4% através da fórmula: $(\text{HCO}_3\text{esperado} - \text{HCO}_3\text{observado}) \times 0,5 \times \text{peso(kg)}$, sendo metade da dose

administrada em 30 minutos e a outra metade em 4 horas. Foi utilizada uma solução com vasopressor (dopamina 250mg diluída em 200ml de SF), na dose de 15 a 30ml/h, quando a PAM estivesse inferior a 60 mmHg.

No final do período de avaliação (360 minutos) os animais foram sacrificados com uma dose letal de tiopental sódico (65 mg/Kg). O pulmão transplantado foi extraído, examinado macroscopicamente (FIGURA 11), pesado e levado à uma estufa a 80°C por 72 horas, após as quais era novamente pesado para a obtenção da relação peso úmido/seco.

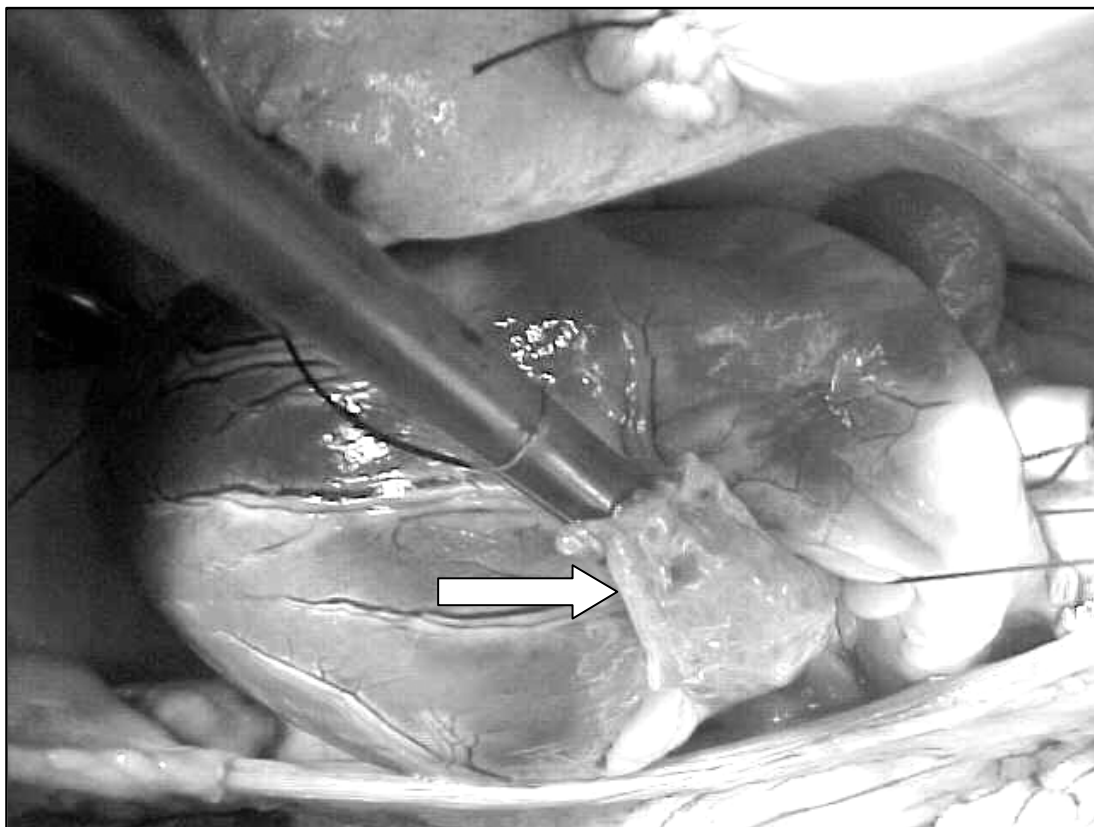
Todos os animais receberam tratamento humanitário de acordo com o "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" preparado pela "National Academy of Sciences" e publicado pelo "National Institutes of Health" (NIH número 80-23, 1978, revisão 1985).

Análise estatística

Os dados coletados foram armazenados em computador pessoal em planilha eletrônica (Microsoft Excel®). A análise estatística foi realizada por programa estatístico (StatGraphics Plus 2.1®, Statistical Graphics Corporation-USA), constando de testes comparativos das médias (T de Student), análise de variância (ANOVA) e regressão linear múltipla quando da interação entre os dados nas unidades de tempo estudadas. Os cálculos estatísticos das medidas hemodinâmicas, parâmetros ventilatórios e de gases arteriais foram comparados entre os grupos a partir dos 30 minutos após a estabilização do pulmão esquerdo. Os resultados foram representados como média $\pm$ erro padrão da média, com nível de significância estatística definido para valores de p inferiores à 0,05.

FIGURA 5

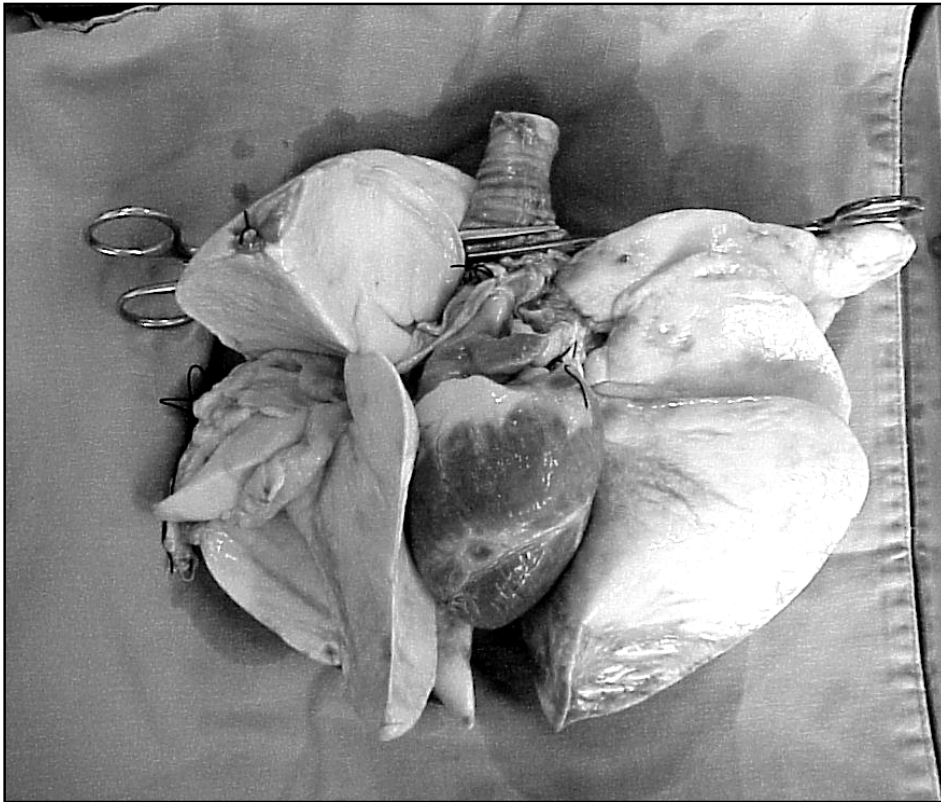
Modelo canino de transplante unilateral utilizado.



Legenda: Canulação do átrio esquerdo à partir do apêndice atrial esquerdo (seta)

FIGURA 6

Modelo canino de transplante unilateral utilizado:



Legenda: Bloco cardio-pulmonar do doador

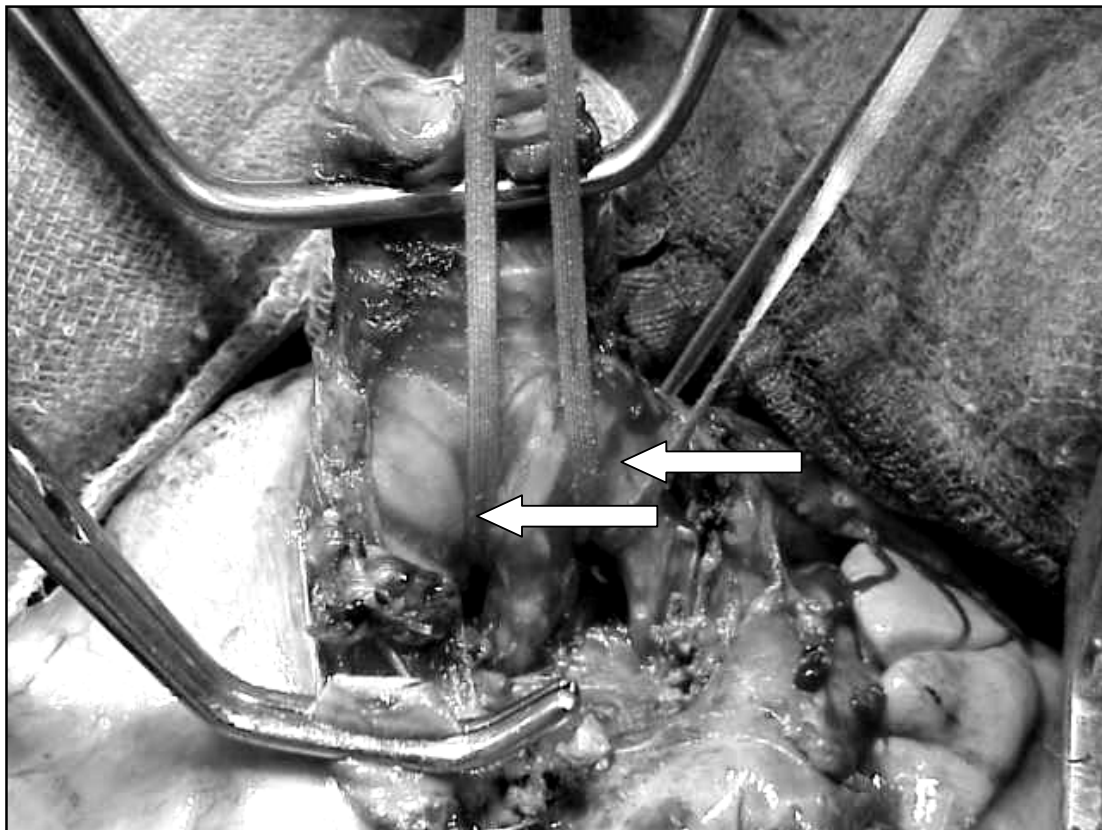
FIGURA 7
Modelo canino de transplante unilateral utilizado



Legenda: Início da dissecação do átrio esquerdo no bloco cardio-pulmonar do doador

FIGURA 8

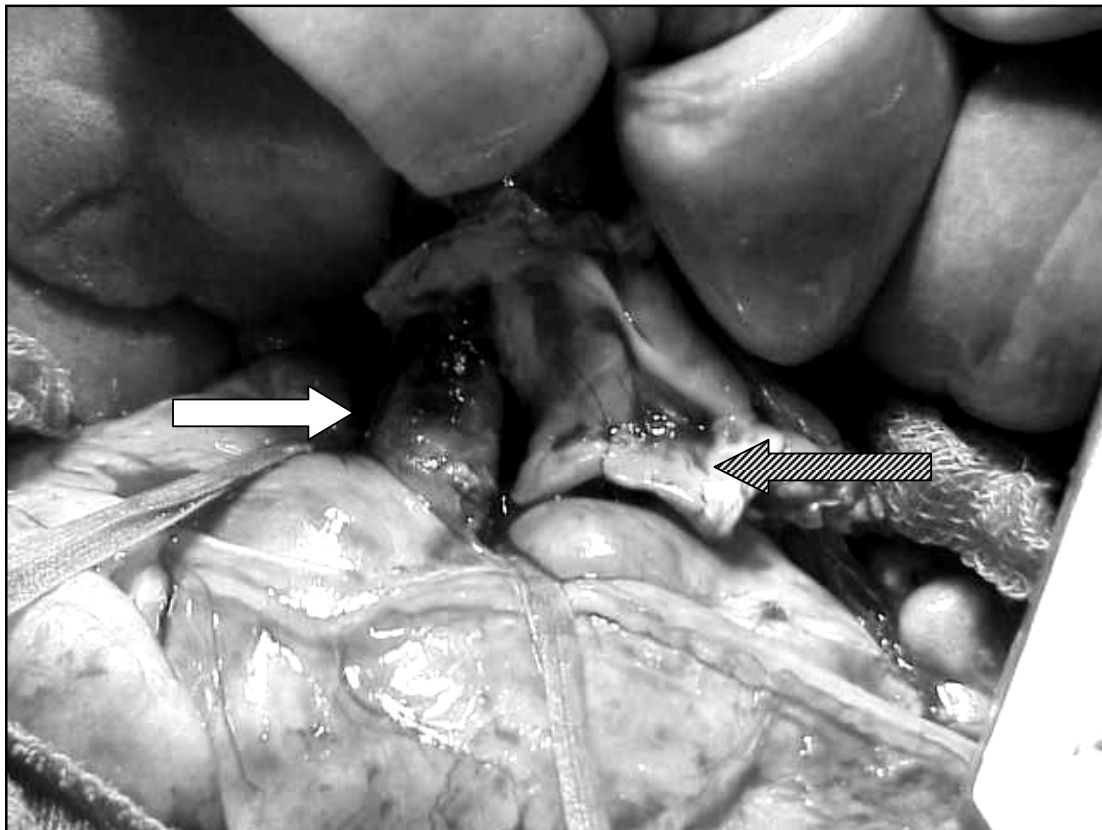
Modelo canino de transplante unilateral utilizado.



Legenda: Isolamento de árvore brônquica direita (setas).

FIGURA 9

Modelo canino de transplante unilateral utilizado.



Legenda: Anastomoses atrial esquerda (seta hachurada) e da artéria pulmonar (seta branca) no receptor.

FIGURA 10

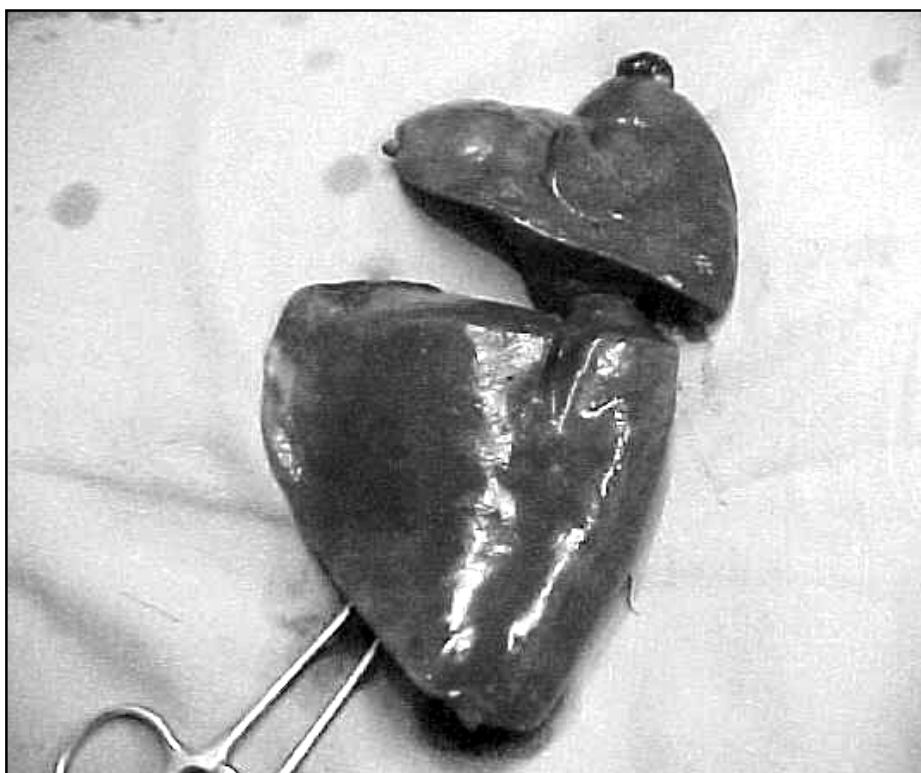
Instilação de perfluorcarbono:



Legenda: conector utilizado para instilação de PFC pelo tubo orotraqueal
(seta)

FIGURA 11

Pulmão submetido a VLP após 6 horas de observação



Legenda: Pulmão preenchido totalmente com perfluorocarbono, apresentando-se com consistência endurecida e de aspecto hemorrágico.

5. RESULTADOS

As medidas da PaO_2 nos animais doadores foram semelhantes em ambos os grupos (grupo I= $571,5 \pm 19,2$ mmHg ; grupo II= $563,6 \pm 21,0$ mmHg; $p=0,78$). Não foram observadas diferenças significativas entre o peso dos animais receptores (grupo I= $19,9 \pm 2$ kg; grupo II= $22,8 \pm 2,6$ kg; $p=0,39$). O tempo de isquemia normotérmica foi semelhante nos 2 grupos, respectivamente: grupo I= $179 \pm 0,8$ minutos; grupo II= 180 minutos; $p=0,34$). O tempo total de isquemia desde o início do procedimento até a reperfusão foi semelhante nos 2 grupos (grupo I: $415 \pm 1,5$ minutos; grupo II= $406 \pm 10,6$ minutos; $p=0,41$). Não houve diferença significativa quanto ao tempo para confecção das anastomoses (grupo I= $32,9 \pm 6,2$ minutos ; grupo II= $42,1 \pm 2,8$ minutos; $p=0,33$). Todos os animais sobreviveram ao período de avaliação de 6 horas após a reperfusão do enxerto.

7.1. Hemodinâmica e Parâmetros ventilatórios

As medidas hemodinâmicas obtidas em ambos os grupos revelaram diferenças estatisticamente significativas nos valores da PAM: grupo I= $98 \pm 2,3$ mmHg; grupo II= $84 \pm 2,3$ mmHg; $p < 0,00001$ (FIGURA 12). Embora não tenham sido observadas diferenças significativas na variável tempo da PAM ($p=0,07$), observou-se uma interação entre grupos sobre o tempo de avaliação ($p=0,02$).

A medida da PMAP foi superior no grupo II ($18 \pm 0,7$ mmHg) em relação ao grupo I ($15,8 \pm 0,7$ mmHg) $p < 0,009$ (FIGURA 13). Não foram observadas diferenças significativas na variável tempo da PMAP ($p=0,42$).

Houve aumento significativo das pressões pico e de platô no grupo submetido a ventilação líquida parcial (pressão de pico no grupo I: $25 \pm 0,8$ cmH₂O;

grupo II: $31,9 \pm 0,8$ cmH₂O; $p < 0,00001$) (FIGURA 14) (pressão de platô no grupo I = $19 \pm 0,6$ cmH₂O ; grupo II = $24 \pm 0,6$ cmH₂O; $p < 0,00001$) (FIGURA 15). Embora não tenham sido observadas diferenças significativas na variável tempo em ambos os parâmetros (pressão de pico $p = 0,52$; pressão de platô $p = 0,36$), observou-se uma interação entre grupos sobre o tempo de avaliação da pressão de platô ($p = 0,04$).

Não foi observado comprometimento significativo da complacência estática com o uso da VLP (grupo I: $21,3 \pm 0,9$ ml/cmH₂O; grupo II: $19 \pm 0,9$ ml/cmH₂O; $p = 0,08$) (FIGURA 16). Não foram observadas diferenças significativas na variável tempo da complacência estática ($p = 0,8$).

7.2. *Análise dos gases arteriais*

Dentre os parâmetros de troca gasosa (gasometria arterial), a PaO₂ no grupo I foi estatisticamente superior ao grupo II, refletindo um melhor desempenho dos pulmões submetidos somente a ventilação convencional (grupo I = $312,38 \pm 16,23$ mmHg ; grupo II = $203 \pm 16,23$ mmHg; $p < 0,00001$ (FIGURA 17). Não foram observadas diferenças significativas na variável tempo da PaO₂ ($p = 0,88$), entretanto houve uma nítida redução progressiva das PaO₂ em ambos os grupos até o final do período de avaliação (360 minutos).

Observaram-se diferenças significativas entre a PaCO₂ entre os grupos, com aumento progressivo e variável nos pulmões submetidos a ventilação líquida parcial, respectivamente: grupo I = $37,2 \pm 1,4$ mmHg ; grupo II = $42,7 \pm 1,4$ mmHg; $p < 0,008$ (FIGURA 18). Não foram observadas diferenças significativas na variável tempo da PaCO₂ ($p = 0,58$).

As medidas de pH do sangue arterial denota acidose metabólica em ambos os grupos. Não obstante, revelaram-se significativamente inferiores no grupo II

($7,22 \pm 0,09$) em relação ao grupo I ($7,29 \pm 0,09$), $p < 0,00001$, A medida de bicarbonato sanguíneo foi abaixo dos limites normais (similares a humanos), acompanhando o padrão de acidose (grupo I = $17,8 \pm 0,4 \text{ mEq}$; grupo II = $16,9 \pm 0,4 \text{ mEq}$; $p = 0,17$).

7.3. Relação peso úmido/peso seco

Não houve diferença significativa na relação peso úmido/seco entre os grupos I e II,: grupo I = $4,2 \pm 0,6 \text{ gramas}$; grupo II = $4,6 \pm 1,2 \text{ gramas}$; $p = 0,52$ (FIGURA 19).

FIGURA 12

Pressão arterial média em ambos os grupos

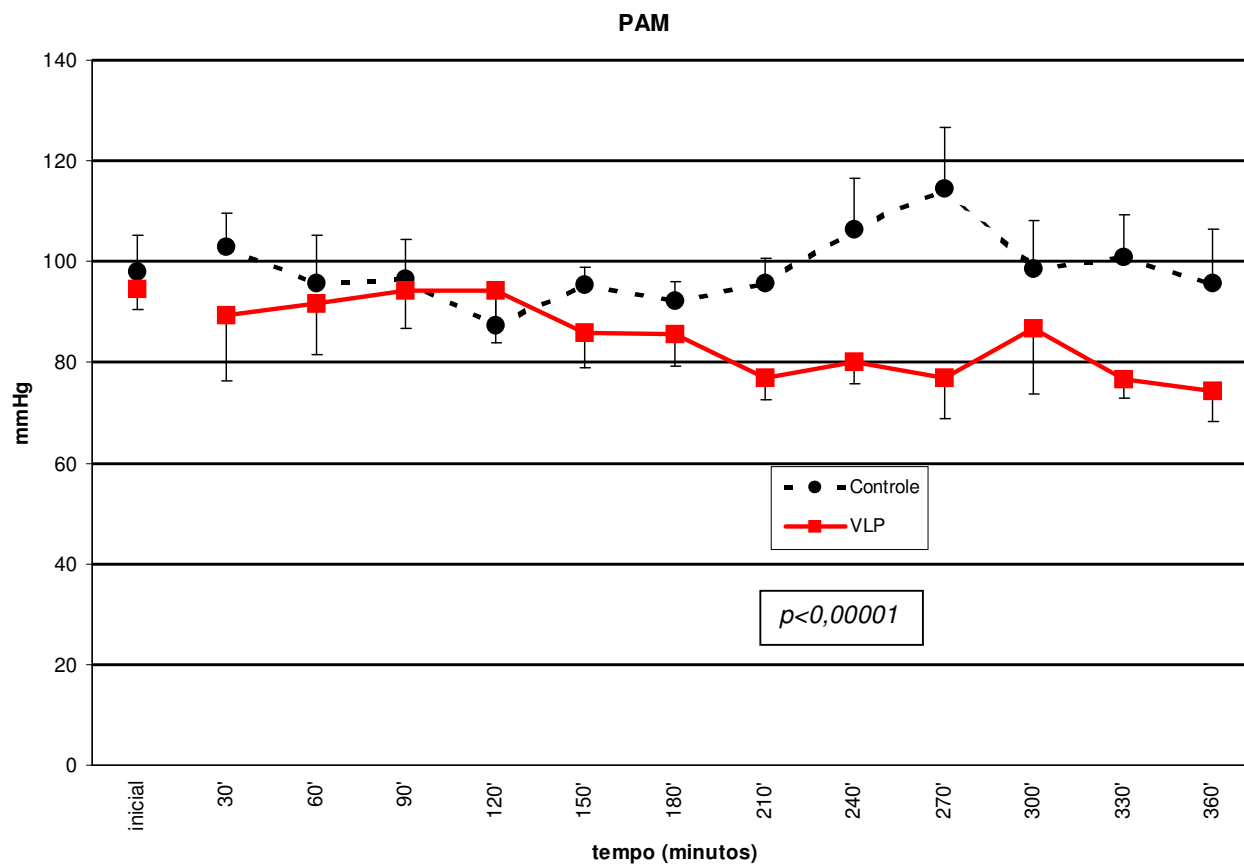


FIGURA 13

Pressão média da artéria pulmonar em ambos os grupos.

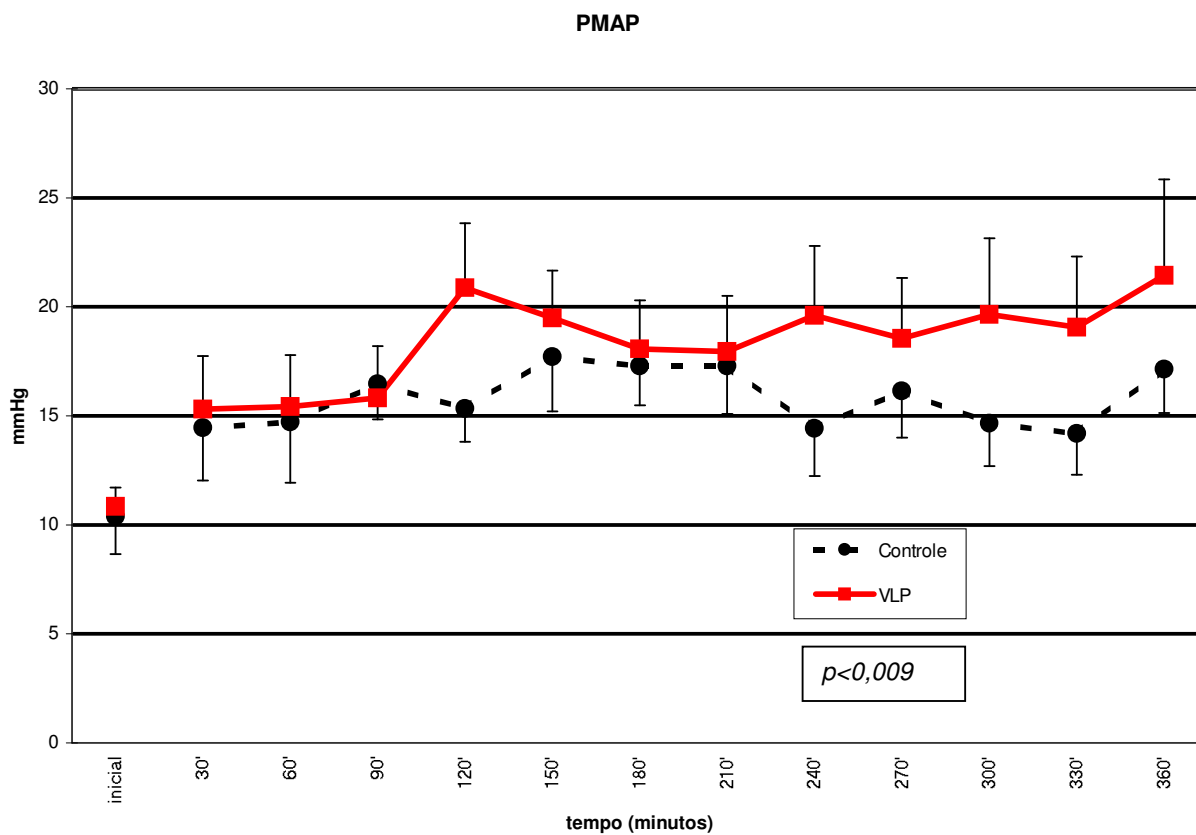


FIGURA 14

Pressão de Pico de vias aéreas antes e após o transplante

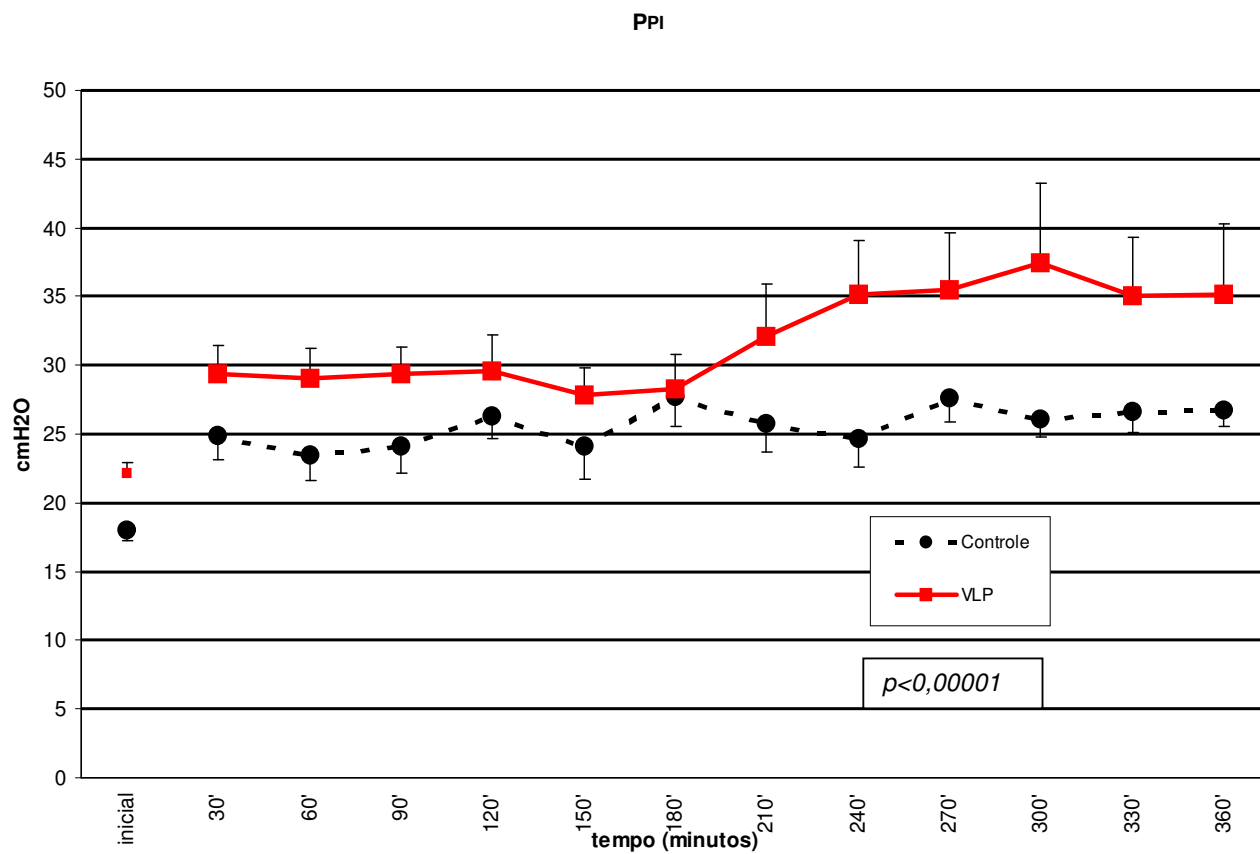


FIGURA 15

Pressão de Platô antes e após o transplante

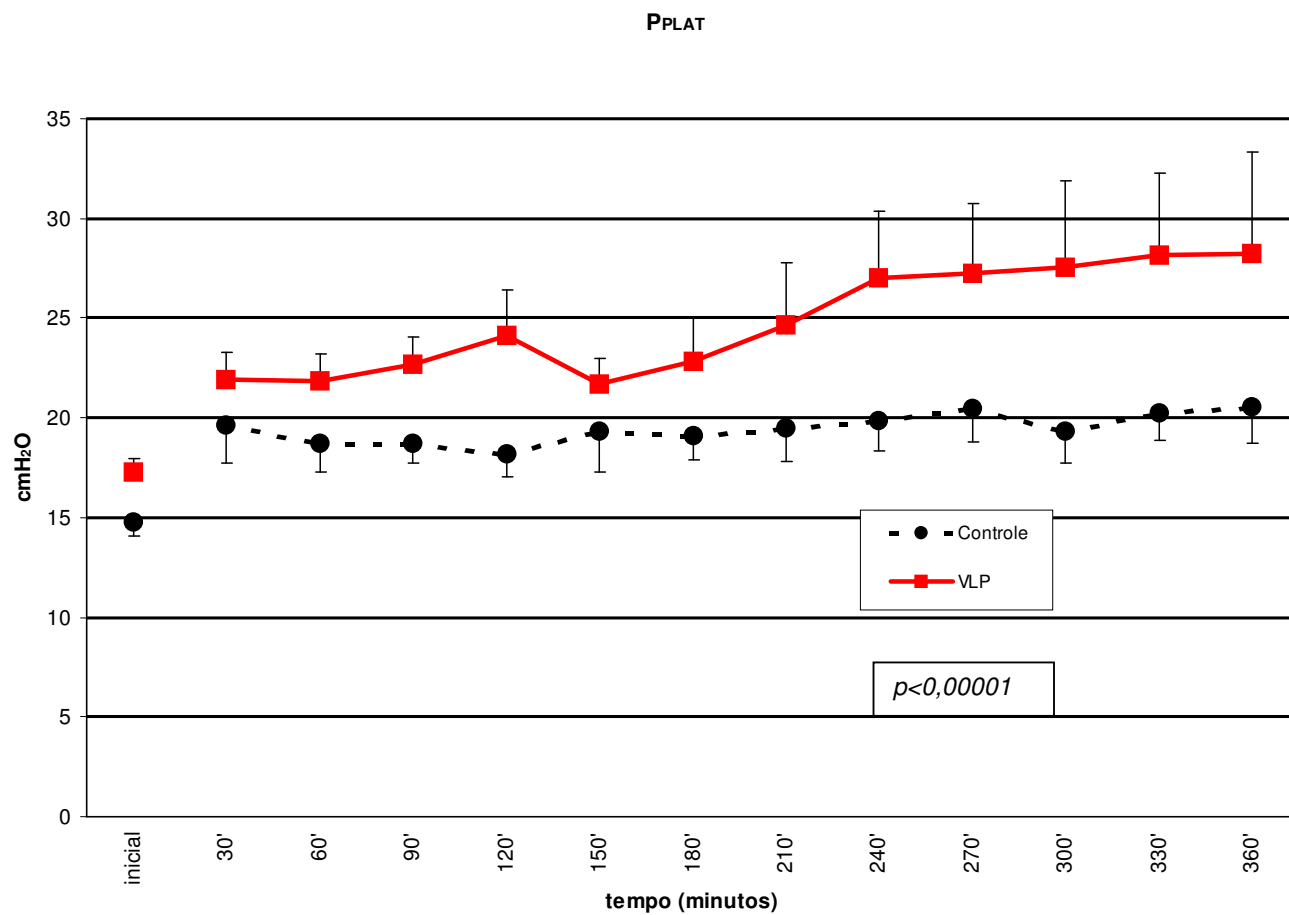


FIGURA 16

Complacência estática observada nos 2 grupos antes e após o implante do enxerto.

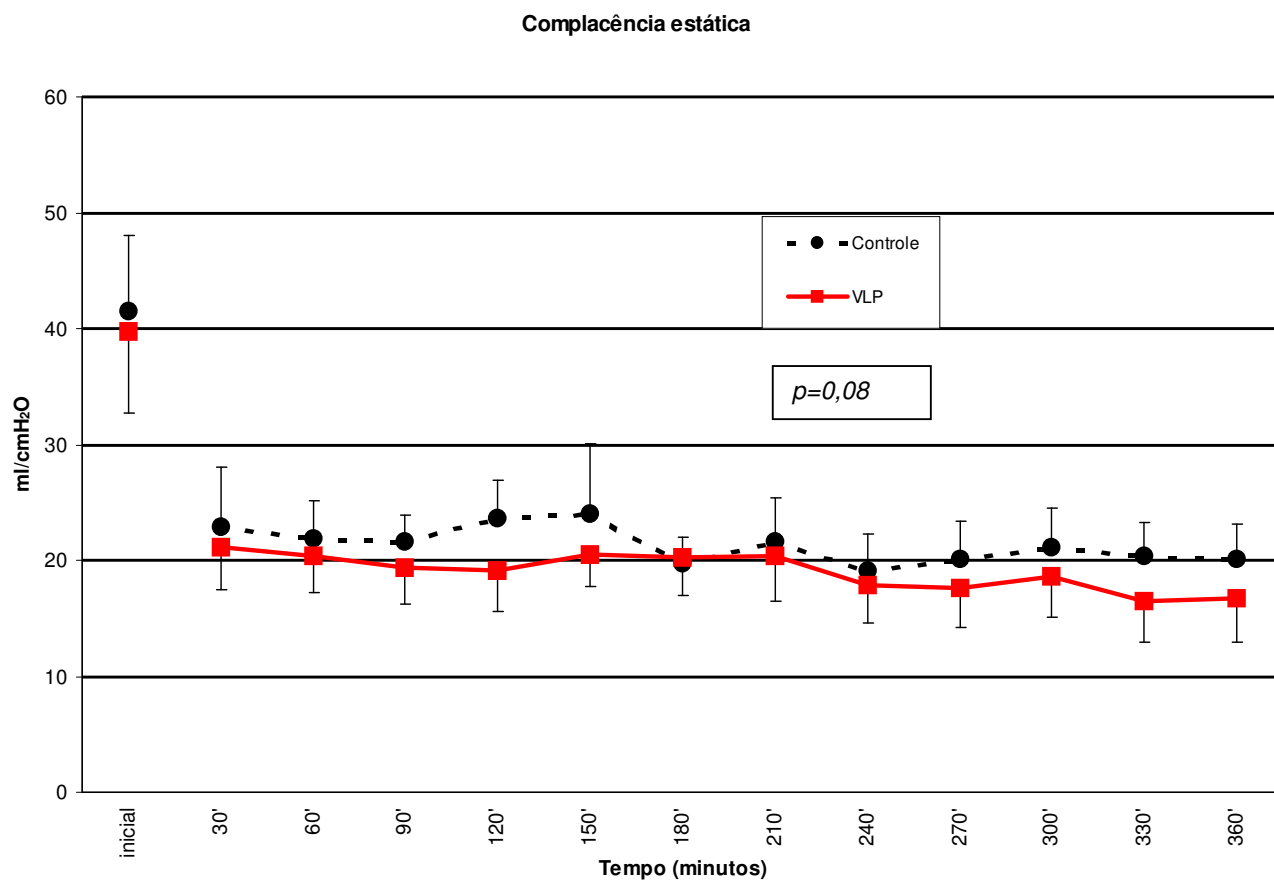


FIGURA 17

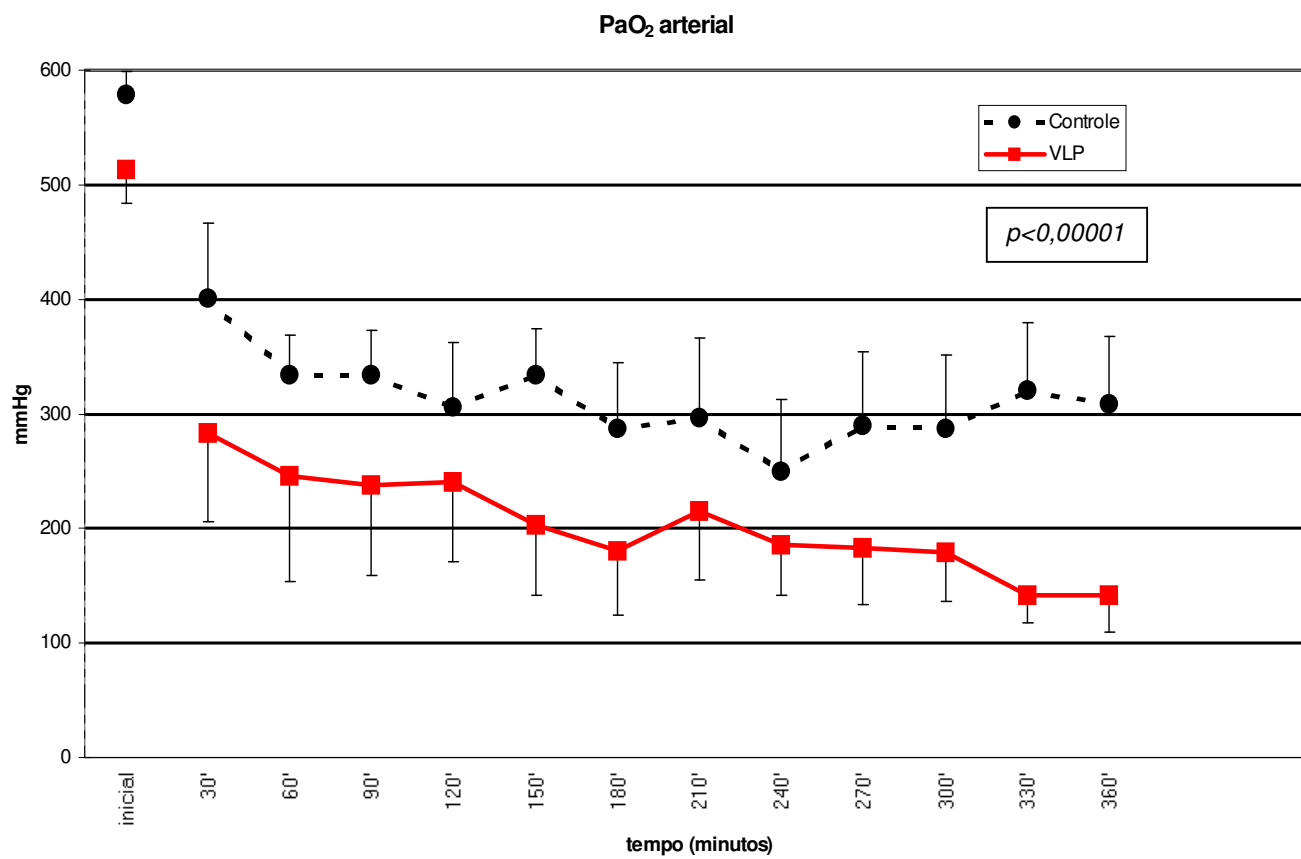
PaO₂ antes e após reperfusão do enxerto

FIGURA 18

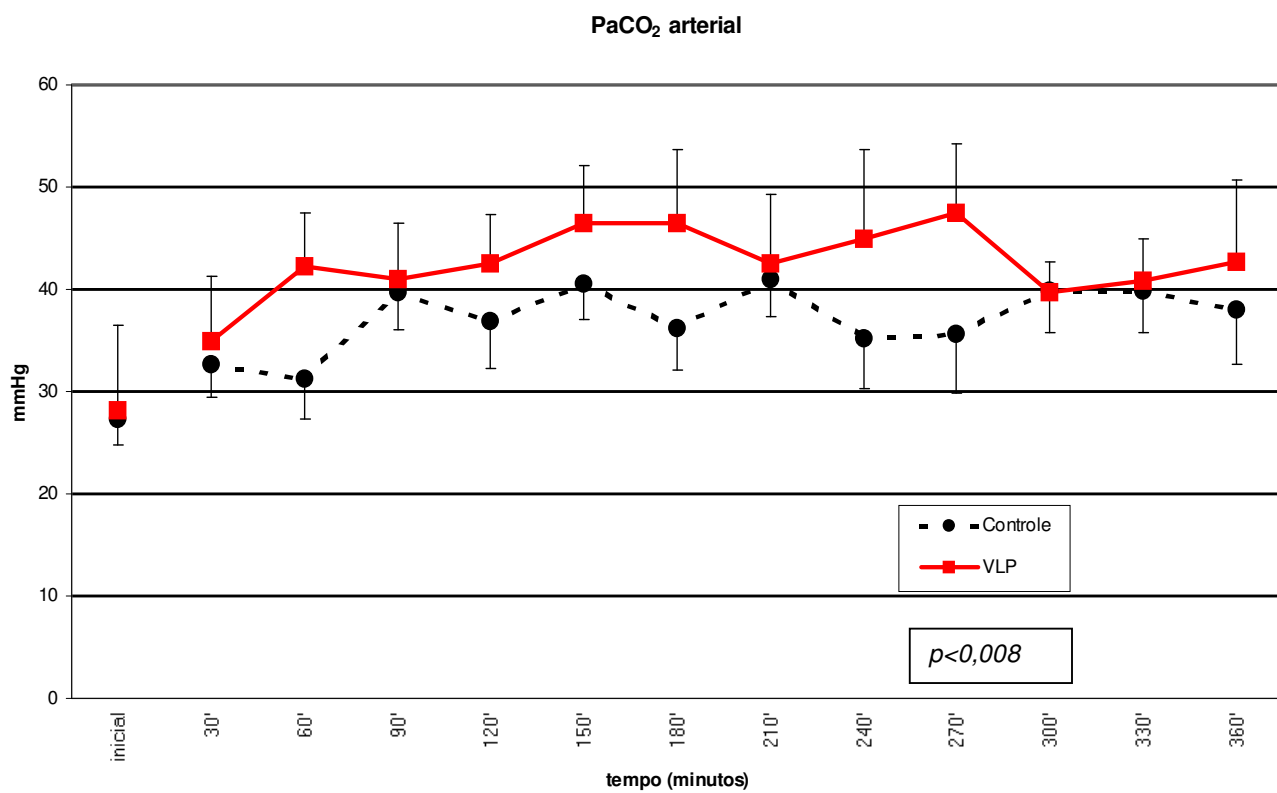
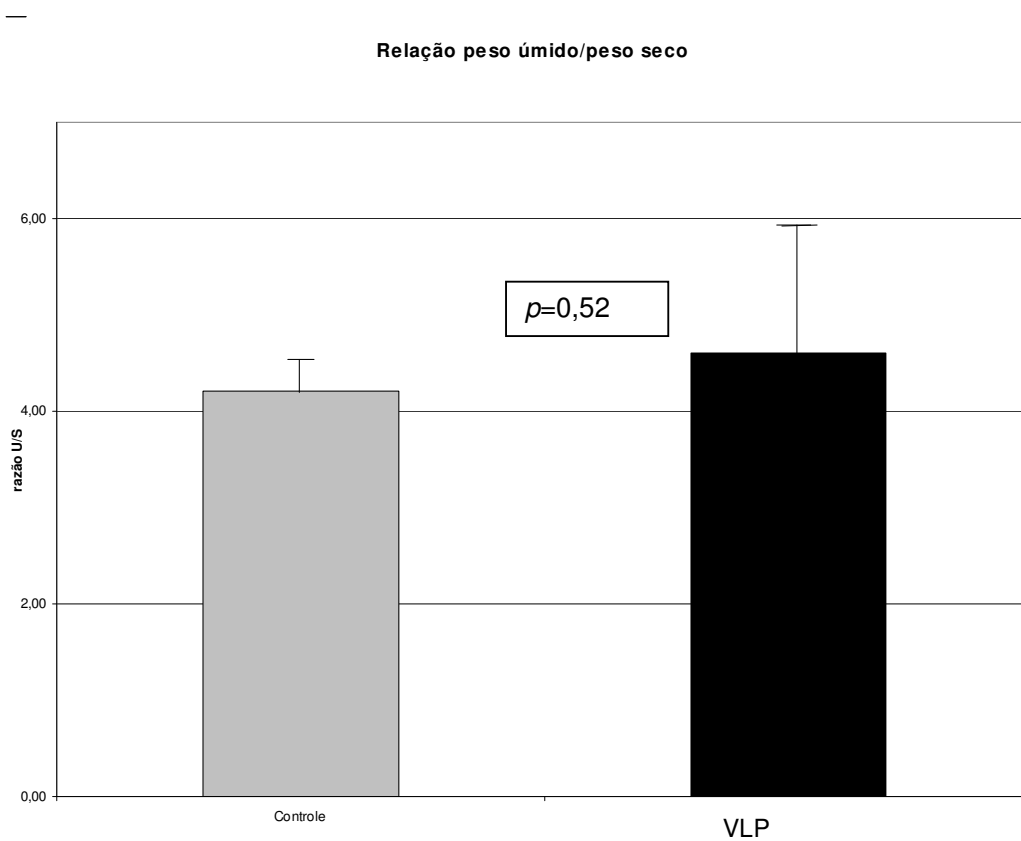
PaCO₂ em ambos os grupos antes e após transplante

FIGURA 19

Relação peso úmido/seco entre os grupos após 6 horas de reperfusão do enxerto.



6. DISCUSSÃO

A doação pulmonar após parada cardio-circulatória tem sido estudada experimentalmente como alternativa para aumentar o número potencial de órgãos para transplante (D'ARMINI, A., et al., 1996, STEEN, S., et al., 1997). No entanto, a severa lesão pulmonar resultante da recirculação do sangue (reperfusão) no enxerto previamente isquêmico após o transplante, permanece sendo o obstáculo de solução mais difícil, exigindo a aplicação de métodos de preservação, estratégias de reperfusão e de ventilação que permitam viabilidade pulmonar. As dificuldades acima descritas traduzem-se no número limitado de relatos de transplantes clínicos realizados com órgãos extraídos de doadores em parada cardíaco-circulatória (D'ALESSANDRO, A., et al., 1995, STEEN, S., et al., 2001)

A injúria de reperfusão após transplante pulmonar é uma complicação que apresenta considerável mortalidade (20%) (PARQUIN, F., et al., 1994), além de influenciar negativamente no desempenho funcional e na viabilidade do enxerto, tanto a curto quanto a longo prazo.

Com base em observações de que a injúria de reperfusão apresenta aspectos semelhantes às alterações pulmonares observadas na síndrome da angústia respiratória aguda, resultando em edema pulmonar e subsequente comprometimento das trocas gasosas e mecânica ventilatória (ADOUMIE, R., et al., 1992), diversos métodos de proteção pulmonar têm sido propostos e testados. Tais métodos variam desde vias alternativas de perfusão de solução preservadora (CHEN, C., et al., 1996, KOHMANN, J., et al., 1999, SARSAM, M., et al., 1993), uso de captadores de radicais livres (EGAN, T., et al., 1993), óxido nítrico administrado por via inalatória (BACHA, E., et al., 1996), dentre outros.

Mais recentemente, o emprego de perfluorocarbonos líquidos para ventilação líquida parcial tem sido objeto de análise. A utilização destes líquidos baseia-se na sua instilação direta nas vias aéreas com o objetivo de melhorar as trocas gasosas e mecânica ventilatória. A associação de um ventilador convencional com perfluorocarbono nas vias aéreas é conhecida como ventilação líquida parcial. A utilização deste método vem sendo ostensivamente estudada em modelos de injúria pulmonar e, em alguns ensaios clínicos (HIRSCHL, R., et al., 1995, HIRSCHL, R., et al., 1996), demonstrando bons resultados com relação a troca gasosa, mecânica ventilatória e propriedades anti-inflamatórias (ROTTA, A., et al., 2000, STEINHORN, D., et al., 1999, TARCZY-HORNOCH, P., et al., 1998).

Em transplante pulmonar a utilização de perfluorocarbonos líquidos têm sido sugerida como uma alternativa a proteção do enxerto (ITANO, H., et al., 1999, LOEHE, F., et al., 2000). Entretanto, o reduzido número de estudos sobre ventilação líquida parcial em modelos de transplante pulmonar ainda não permite fundamentar bases a respeito da sua real efetividade na preservação pulmonar após o transplante.

Nosso estudo surgiu da necessidade de verificar-se a potencial utilidade do PFC como agente empregado para ventilação líquida parcial de enxertos pulmonares transplantados e reperfundidos após insulto isquêmico severo, aqui representado por 3 horas de isquemia normotérmica pós-morte. Tal estratégia serviu também ao propósito de averiguar se a adição de PFC à estratégia ventilatória após reperfusão apresentaria impacto na viabilidade dos enxertos extraídos após a morte clínica, com vistas à sua potencial utilização em transplantes no futuro.

Apesar de diversos estudos realizados em ventilação líquida parcial, ainda existem várias questões pendentes sobre a melhor estratégia ventilatória, a dose e o tipo de perfluorocarbono ideal para a obtenção dos melhores resultados em modelos de injúria pulmonar.

Durante os últimos 40 anos vários tipos de perfluorocarbonos foram utilizados, sendo o perfluorobromo (perfluoro-octilbromido) o mais estudado em modelos animais de injúria pulmonar e também testado em ensaios clínicos. Este PFC é conhecido comercialmente como LiquiVent® ($C_8F_{17}Br_1$)(Alliance Pharmaceutical Corp. – EUA)(GREENSPAN, J., et al., 1997, HIRSCHL, R., et al., 1996).

No presente estudo utilizamos a Perfluorodecalina® ($C_{10}F_{18}$), a qual apresenta diferentes propriedades físico-químicas em relação ao perfluorobromo. A opção pela Perfluorodecalina® adveio do fato de ser este o único PFC disponível para importação e uso em nosso meio, uma vez que o Perfluorobromo tem seu uso restrito a centros clínicos e de pesquisa norte-americanos.

A dose de perfluorocarbono utilizada, o manejo ventilatório e as propriedades físico-químicas do líquido podem estar diretamente relacionadas as observações encontradas neste estudo. Estas propriedades podem diferir mormente devido as diferentes estruturas moleculares de cada perfluorocarbono. Assim sendo, algumas características específicas tais como, solubilidade, densidade, viscosidade e tensão superficial, podem ter influenciado nos resultados obtidos nos pulmões transplantados dos animais submetidos a ventilação líquida parcial.

A perfluorodecalina, apresenta alta viscosidade e menor solubilidade ao O_2 e CO_2 quando comparada ao perfluorobromo como descrito na tabela das

propriedades dos perfluorocarbonos. A viscosidade dos PFCs reflete a resistência que um líquido apresenta para mudar de forma, e pode ter relação direta com a distribuição intra-pulmonar (MILLER, T., et al., 2001). A alta densidade dos PFCs também pode influenciar em sua distribuição, já que estes líquidos são quase duas vezes mais densos que a água, fazendo com que a distribuição seja dependente da gravidade. Desta forma, para uma boa distribuição deveríamos tomar como base a viscosidade cinética, a qual leva em consideração a viscosidade do líquido relacionada a sua densidade. A alta viscosidade cinética da perfluorodecalina[®] pode ter tido influência negativa na distribuição intra pulmonar deste PFC, juntamente com sua menor solubilidade para O₂ e CO₂, resultando na diminuição significativa da PaO₂ e aumento da PaCO₂ observada no grupo submetido a ventilação líquida parcial (MILLER, T., et al., 2001).

Outras propriedades físico-químicas dos PFCs também são capazes de influenciar nas trocas gasosas e mecânica ventilatória durante a VLP. Líquidos com mais alto coeficiente de distribuição podem mais eficientemente preencher a superfície de revestimento alveolar e, conseqüentemente, diminuir a tensão superficial de todo o pulmão lesado. Com respeito a este particular, a perfluorodecalina[®] tem um coeficiente de distribuição (-1,5 dinas/cm) menor que perfluorobromo (2,7 dinas/cm). Por esta razão, podem ocorrer diferenças nos padrões ventilatórios em modelos semelhantes de injúria pulmonar quando são utilizados diferentes líquidos (AL-RAHAMI, A., et al., 2000, TÜTÜNCÜ, A., et al., 1993).

A utilização de perfluorodecalina[®] em modelos de injúria pulmonar ainda é pequena quando comparada ao uso do perfluorobromo. Apesar do restrito número de estudos, este produto tem apresentado resultados inferiores com

relação a melhora da função pulmonar, se comparados com os do perfluoro-octilbromido (MILLER, T., et al., 2001).

Miller et al (MILLER, T., et al., 2001) observaram que a distribuição inicial e redistribuição intra-pulmonar dos PFC, bem como sua taxa de eliminação, troca gasosa e complacência pulmonar estão relacionadas diretamente as propriedades físico-químicas destes líquidos.

Devido as diferenças físico-químicas entre os perfluorocarbonos, diferentes estratégias ventilatórias também podem ser realizadas para melhorar a distribuição da perfluorodecalina[®]. Em nosso estudo utilizamos uma PEEP de 5 cmH₂O que, segundo Herman et al (HERMAN, L., et al., 1996), está entre os valores necessários para que se mantenham as vias aéreas de maior calibre livres de PFC, prevenindo o seu refluxo. O uso de PEEP mais altas melhoram a distribuição do PFC, fazendo com que o líquido alcance as vias aéreas distais mantendo distendidos os alvéolos que se encontram parcialmente preenchidos por líquido, melhorando a complacência pulmonar e, por conseguinte as trocas gasosas (KAISERS, U., et al., 1998). Recentemente vários estudos têm demonstrado que ajustes na estratégia ventilatória melhoram as trocas gasosas e a mecânica ventilatória. A utilização de PEEP mais elevadas (>10 cmH₂O) ou ajustadas através do ponto de inflexão inferior da curva pressão-volume, tem efeito significativo na melhora das trocas gasosas (KIRMSE, M., et al., 1998). Por outro lado, quando são utilizadas PEEP mais baixas (em quantidade suficiente para impedir o refluxo de líquido), os ajustes na relação I:E são igualmente importantes, pelo aumento do tempo inspiratório. Lim et al (LIM, C., et al., 1999), utilizando perfluorodecalina[®] em modelo de injúria pulmonar, observaram melhora na oxigenação arterial com relação I:E de 1:1 com um baixo PEEP (2 cmH₂O).

A expectativa de que, com a utilização de perfluorocarbono após o transplante, se aumentaria a complacência estática pulmonar através da reabertura de alvéolos colapsados, não foi observada ao longo do presente estudo. Ao contrário, observamos uma diminuição significativa da complacência com relação aos parâmetros basais em ambos os grupos, a qual permaneceu constante durante todo o período de observação, sem diferenças entre os 2 grupos. A melhora da complacência estática, que reflete as propriedades elásticas do pulmão, provavelmente estaria aumentada caso fossem realizados ajustes no ventilador levando em consideração as propriedades do líquido utilizado. Nossas observações são semelhantes aos achados de Miller et al (MILLER, T., et al., 2001), que não observaram melhora na complacência respiratória com o uso de perfluorodecalina[®] quando comparada com outro perfluorocarbono.

O aumento da pressão de pico e pressão de platô foram significativamente maiores no grupo submetido a VLP provavelmente devido a presença da coluna líquida nas vias aéreas de grande calibre, fato que impedia o fluxo de ar para as vias aéreas distais (FERREYRA, G., et al., 2000). Não obstante, de acordo com Fujino et al (FUJINO, Y., et al., 2000) tal achado não é usualmente observado quando são utilizados PEEP mais elevados.

A instilação de doses de PFC iguais a capacidade residual funcional (CRF) constitui-se em prática corrente na grande maioria dos trabalhos com ventilação líquida parcial (FUHRMAN, B., et al., 1991). Muito embora, Lim et al (LIM, C., et al., 2000), ao estudarem diferentes doses de perfluorodecalina[®], demonstraram que doses menores do que a capacidade residual funcional podem ser utilizadas com bons resultados na função pulmonar. Os mesmos autores observaram que na medida em que aumentavam-se as doses, não havia melhora nos

componentes resistivo e elástico pulmonares. Os mesmos autores enfatizaram a importância de que a dose utilizada deveria ser individualizada de acordo com a extensão da área lesada.

A dose de perfluorodecalina[®] utilizada em nosso estudo foi de 15 ml/kg administrada ao longo de aproximadamente 30 minutos (CRF de um único pulmão canino), com reposição horária ulterior de 1ml/kg. O método de instilação dos PFC ainda não está definido, podendo ser administrados em “bolus” com PFC oxigenado com o ventilador desconectado, por gotejamento contínuo e lento, ou ainda por breves períodos de ventilação líquida total (3-5 min) (WOLFSON, M., et al., 1998). Preferimos utilizar a infusão lenta de PFC através de um conector lateral ao tubo endotraqueal, por acreditarmos que este método não provoca alterações abruptas na ventilação, contribuindo para uma melhor distribuição do líquido nas vias aéreas distais. Outro fator que poderia contribuir para uma distribuição mais homogênea dos PFC seria a mudança de posicionamento dos animais durante as instilações (BATEMAN, S., et al., 2001, MILLER, T., et al., 1999). Merz et al (MERZ, U., et al., 2001) também sugerem melhores resultados funcionais através da administração contínua de PFC quando comparada a instilação em doses múltiplas. Embora tenhamos utilizado doses de reposição horária em nossos experimentos, não observamos qualquer melhora na oxigenação de acordo com as medidas seriadas da PaO₂ arterial.

A instilação de PFC provocou alterações significativas na pressão arterial pulmonar média, causando seu aumento progressivo durante o período de observação, quando comparada ao grupo controle. Itano et al (ITANO, H., et al., 1999) utilizando perfluorobromo em modelo de transplante pulmonar canino após 18 horas de isquemia hipotérmica, não verificaram alterações na PMAP ou

resistência vascular pulmonar. Embora Lueders et al (LUEDERS, M., et al., 1998) também não tenham encontrado alterações da resistência vascular pulmonar ao utilizar perfluorodecalina[®] oxigenada em pequenos animais submetidos a injúria pulmonar induzida por ácido oleico, os autores verificaram que a indução de hipoxemia aumentava a resistência vascular periférica. Baseados nestes achados inferimos que, em nosso estudo, a diminuição da oxigenação arterial no grupo submetido a ventilação líquida parcial provavelmente contribuiu para as alterações hemodinâmicas observadas, sobretudo como para a elevação da pressão arterial pulmonar. A hipoxemia também pode ter sido responsável pela diferença significativa observada entre o grupo controle e o submetido a VLP na pressão arterial média. Apesar do uso de substâncias vasoativas para a manutenção da pressão em níveis superiores a 60 mmHg, houve nítida estabilidade hemodinâmica no grupo controle.

A medida indireta de edema pulmonar obtida através da mensuração da relação peso úmido/peso seco do enxerto ao término do experimento, não demonstrou diferenças significativas entre os grupos estudados. Usualmente este resultado poderia ser interpretado como uma equiparação entre os grupos no que tange a retenção de água intrapulmonar (edema). Embora este seja o método de escolha para quantificação indireta de água intrapulmonar na maioria dos estudos em modelos semelhantes de transplante pulmonar (KOHMANN, J., et al., 1999, MAYER, E., et al., 1992), em nosso estudo pairam algumas dúvidas sobre a confiabilidade dos resultados. Tais dúvidas decorrem das possíveis alterações que possam ter ocorrido devido aos pulmões nos animais do grupo II estarem preenchidos com líquido (PFC) de propriedades diferentes das da água, o qual pode extravasar-se no momento da retirada do pulmão para armazenamento na

estufa, causando erros na leitura dos pesos úmidos como já descrito por outro autor (LOEHE, F., et al., 2000). Portanto, faz-se necessária a utilização no futuro de outros métodos para quantificar edema pulmonar em pulmões transplantados submetidos a ventilação líquida parcial.

A injúria de reperfusão após transplante pulmonar pode iniciar-se logo após a reperfusão do enxerto e sua intensidade é variável, portanto sua repercussão funcional é dependente da intensidade de suas alterações. Por conseguinte, a injúria de reperfusão pode ocorrer logo após o transplante ou desenvolver-se várias horas após o procedimento (ADOUMIE, R., et al., 1992). Assim sendo, o momento ideal para utilização da perfluorodecalina[®] na prevenção da injúria de reperfusão ainda não está definido.

É provável que os benefícios maiores da utilização da perfluorodecalina[®] só se tornem aparentes mais tardiamente no período de reperfusão e não imediatamente após o transplante, como avaliado em nosso modelo. Uma vez que o pico da lesão causada pela injúria de reperfusão seria 8 horas após o transplante. Para isto seria necessário aumentar o tempo de observação. Por outro lado a utilização de PFC no enxerto durante o período isquêmico, isto é, antes do transplante pulmonar, talvez seja a melhor estratégia para preservação da membrana alveolocapilar e do sistema surfactante. Loehe et al utilizaram perfluorodecalina como único método de preservação em pulmões armazenados sob hipotermia por 18 horas e também não foram capazes de demonstrar superioridade nas trocas gasosas no pulmão transplantado destes animais quando comparado aos do grupo controle, no qual os animais haviam recebido soluções de preservação na circulação pulmonar.

O tempo de isquemia neste modelo de injúria pulmonar foi muito superior do que o observado em estudos anteriores (KOHMANN, J., et al., 1999), já que o somatório de todo o período de isquemia antes da reperfusão em média foi de 411 minutos. Mesmo assim a função do enxerto foi satisfatória em ambos os grupos até 6 horas de reperfusão, embora com evidente superioridade de desempenho nos animais do grupo controle. Isto demonstra que pulmões, mesmo quando submetidos a períodos mais longos de isquemia, podem ser ventilados com PFC e ainda apresentarem desempenho funcional satisfatório após a reperfusão.

Apesar de resultados promissores após quase uma década de estudos sobre ventilação líquida parcial em modelos de injúria pulmonar, a sua utilização em transplante pulmonar só recentemente vem sendo testada na literatura (ITANO, H., et al., 1999, LOEHE, F., et al., 2000). Nosso estudo foi realizado utilizando parâmetros ventilatórios idênticos em ambos os grupos, e um tipo de perfluorocarbono ainda pouco utilizado. Não obstante aos resultados funcionais superiores obtidos nos animais submetidos a ventilação convencional, a VLP mostrou-se como alternativa viável promovendo trocas gasosas estáveis e compatíveis com a vida. Entendemos portanto, que as observações deste estudo foram importantes para cunharem-se as bases à partir das quais poder-se-ão empreender novos estudos visando melhorar o desempenho funcional do enxerto pulmonar submetido a ventilação líquida parcial com perfluorodecalina®, definindo-se com mais precisão a sua utilidade e aplicabilidade em transplantes pulmonares. Antevemos portanto, que o emprego futuro de PFC como agente adjuvante possa ser viável para a ventilação de enxertos pulmonares submetidos a severo insulto isquêmico. Para tanto, serão necessários estudos futuros para

esclarecer-se o papel da ventilação líquida parcial nos transplantes pulmonares, bem como os critérios e metodologia de sua aplicação clínica.

7. CONCLUSÕES

A ventilação líquida parcial perfluorcarbono pode ser utilizada como método alternativo de ventilação neste modelo de transplante pulmonar.

A utilização da ventilação líquida parcial com perfluorcarbono em modelo experimental de transplante pulmonar unilateral esquerdo resultou em dificuldades de ventilação com pressão de pico e platô superiores em relação ao grupo submetido a ventilação convencional com os mesmos ajustes ventilatórios.

As trocas gasosas representadas pela análise dos gases arteriais foram inferiores no grupo submetido a ventilação líquida parcial quando comparadas ao grupo submetido a ventilação mecânica convencional.

Os cães submetidos a ventilação líquida parcial apresentaram maiores repercussões hemodinâmicas que aqueles do grupo controle.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOUMIE, R.;SERRICK, C.;GIAID, A.;HENNID, H. Early cellular events in the lung allograft. *Ann Thorac Surg* ; 54:1071-1077,1992.

AL-RAHAMI, A.;AWAD, K.;MILLER, T.;WOLFSON, M.;SHAFFER, T. Effects of partial liquid ventilation with perfluorodecalin in the juvenile rabbit lung after saline injury. *Crit Care Med* ; 28(5):1459-1464,2000.

ALY, H.;LUEDERES, M.;WEISWASSER, J., et al. Partial liquid ventilation (plv) and lung injury: is plv able to modify pulmonary vascular resistance? *J Pediatr Surg* ; 32(2):197-202,1997.

BABA, A.;KIM, Y.;ZHANG, H.;LIU, M.;SLUTSKY, A. Perfluorocarbon blocks tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 release from alveolar epithelial cells in vitro. *Crit Care Med* ; 28(4):1113-1118,2000.

BACHA, E.;HERVÉ, P.;MURAKAMI, S. Lasting beneficial effect of short-term nitric oxide on graft function after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 112:590-598,1996.

BATEMAN, S.;DOCTOR, A.;PRICE, B., et al. Optimizing intrapulmonary perfluorocarbon distribution: fluoroscopic comparison of mode of ventilation and body position. *Crit Care Med* ; 29(3),2001.

BEISANG, A.;FEEMSTER, J.;DIETZMAN, R., et al. Damage assay of kidneys frozen by intraarterial perfusion with a fluorocarbon. *Federation Proc.* ; 29(5):1782-1788,1970.

BIGELOW, W.; et al. General hypothermia for experimental intracardiac surgery. *Ann Surg* ; 131:531-,1950.

BLADES, B.;BEATTIE, E.J.;HILL, R. et al. Ischemia of the lung. *Ann Surg* ; 136:56-62,1952.

BLADES, B.;PIERPOINT, H.;SAMADI, A., et al. The effect of experimental lung ischemia on pulmonary function: a preliminary report. *Surg Forum* ; 4:255-260,1953.

BOASQUEVISQUE, C.;MORA, B.;BOGLIONE, M.; et al. Liposome-mediated gene transfer in rat lung transplantation: A comparison between the in vivo and ex vivo approaches. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 117:8-15,1999.

BOREN, H. Deposition and removal of carbon particles by fluorocarbon breathing. *Federation Proc.* ; 29(5):1737-1739,1970.

BUCHANAN, S.;MAUNEY, M.;PAREKH, V., et al. Intracheal surfactant administration preserves airway compliance during lung reperfusion. *Ann Thorac Surg* ; 62:1617-21,1996.

CALDERWOOD, H.;MODELL, J.;RUIZ, B.;BROGDON, J.;HOOD, C. Pulmonary lavage with liquid fluorcarbon in a model of pulmonary edema. *Anesthesiology* ; 38(2):141-144,1973.

CALDERWOOD, H.;RUIZ, B.;THAM, M., et al. Residual levels and biochemical changes after ventilation with perfluorinated liquid. *J. Appl. Physiol.* ; 39(4):603-607,1975.

CARDOZO, R.;STEENDIJK, P.;BAAN, J., et al. Right ventricular function in respiratory distress syndrome and subsequent partial liquid ventilation. *Am j Respir Crit Care Med* ; 162:374-379,2000.

CHEN, C.;GALLAGER, R.;ARDERY, P.;DYCKMAN, W.;LOW, H. Retrograde versus antegrade flush in canine left lung preservation for six hours. *J Heart Lung Transplant* ; 15:395-403,1996.

CLARK, L.;GOLLAN, F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with at atmospheric pressure. *Science* ; 152:1755-1756,1966.

CLARK, L.;KAPALN, S.;BECANTTINI, F.;BENZING III, G. Perfusion of whole animals with perfluorinated liquid emulsions using the Clark bubble-defoam heart-lung machine. *Federation Proc.* ; 29(5):1764-1770,1970.

D'ARMINI, A.;ROBERTS, C.;LEMASTERS, J.;EGAN, T. Lung retrieval from cadaver donors with non-beating hearts: optimal preservation solution. *J Heart Lung Transplant* ; 15:496-505,1996.

D'ALESSANDRO, A.;HOFFMANN, R.;KNETCHTLE, S., et al. Successful extrarenal transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* ; 59(7):977-982,1995.

DEGRAEUWE, P.;VOS, G.;GESKENS, G.;GEILEN, J.;BLANCO, C. Effect of perfluorochemical liquid ventilation on cardiac output and blood pressure variability in neonatal piglets with respiratory insufficiency. *Pediatr Pulmonol* ; 30:114-124,2000.

DEMIKHOV, V. *Experimental transplantation of vital organs*. New York: Consultants Bureau Enterprises, 1962.

DEROM, F.;BARBIER, F.;RINGOIR, S., et al. Ten month survival after lung homotransplantation in man. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 61:835-846,1971.

DOCTOR, A.;MAZZONI, M.;DELBALZO, U.;DICANZIO, J.;ARNOLD, J. High-frequency oscillatory ventilation on the perfluorocarbon-filled lung: preliminary results in an animal model of acute injury. *Crit Care Med* ; 27(11):2500-2507,1999.

EGAN, T.;LAMBERT, C.;REDDICK, R., et al. A strategy to increase the donor pool: Use of cadaver lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg* ; 52:1113-1121,1991.

EGAN, T.;ULICNY, K.;LAMBERT, C.;WILCOX, B. Effect of a free radical scavenger on cadaver lung transplantation. *Ann Thorac Surg* ; 55:1453-1459,1993.

FERREYRA, G.;GODDON, S.;FUJINO, Y.;KACMAREK, R. The relationship between gas delivery patterns and the lower inflection point of the pressure-volume curve during partial liquid ventilation. *Chest* ; 117(1):191-198,2000.

FORMAN, M.;INGRAM, D.;MURRAY, J., et al. Role of perfluorchemical in the treatment of myocardial reperfusion injury. *Am Heart J* ; 124:1347-1357,1992.

FOX, W.;WEIS, C.;COX, C., ET AL. Pulmonary administration of gentamicin during liquid ventilation in a newborn lamb lung injury model. *Pediatrics* ; 100(5):E:5,1997.

FUHRMAN, B.;PACZAN, P.;DEFRANCISIS, M. Perfluorocarbon-associated gas exchange. *Crit Care Med* ; 19(5):712-722,1991.

FUJINO, Y.;GODDON, S.;CHICHE, J.;HROMI, J.;KACMAREK, R. Partial liquid ventilation ventilates better than gas ventilation. *Am J Resp Crit Care Med* ; 162:650-657,2000.

FUJINO, Y.;KIRMSE, M.;HESS, D.;KACMAREK, R. The effect of mode, inspiratory time, and positive end-expiratory pressure on partial liquid ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* (159):1087-1095,1999.

GAUGER, P.;OVERBECK, M.;KOEPE, R., et al. Distribution of pulmonary blood flow and total lung water during partial liquid ventilation in acute lung Injury. *Surgery* ; 122(2):313-23,1997.

GAUGER, P.;PRANIKOFF, T.;SCHREINER, R.;MOLER, F.;HIRSCHIL, R. Initial experience with partial liquid ventilation in pediatric patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* ; 24(1):16-22,1996.

GEYER, R. Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersions. *Federation Proc.* ; 29(5):1758-1763,1970.

GOLLAN, F.;MCDERMOTT, J.;JOHNSON, A.;NAMON, R. Compliance and diffusion during respiration with fluorocarbon fluid. *Federation Proc.* ; 29(5):1725-1730,1970.

GREENSPAN, J.;FOX, W.;RUBENSTEIN, D., et al. Partial liquid ventilation in critically ill infants receiving extracorporeal life support. *Pediatrics* ; 99(1):1-5,1997.

GREENSPAN, J.;WOLFSON, M.;RUBENSTEIN, D.;SHAFFER, T. Liquid ventilation of human preterm neonates. *J Pediatr* ; 117:106-111,1990.

GREENSPAN, J.;WOLFSON, M.;RUBENSTEIN, S.;SHAFFER, T. Liquid ventilation of preterm baby. *Lancet* ; ii:1095,1989.

HARDY, J.;WEBB, W.;DALTON, M., et al. Lung homotransplantation in man. *JAMA* ; 186:1065-1074,1963.

HARJULA, A.;BALDWIN, J.;SHUMWAY, N. Donor deep hypothermia or donor pretreatment with prostaglandin E1 and single pulmonary artery flush for heart-lung graft preservation: an experimental primate study. *Ann Thorac Surg* ; 46:553-555,1988.

HERMAN, L.;FUHRMAN, B.;KAISER, R., et al. Perfluorocarbon-associated gas exchange in normal and acid-injured large sheep. *Crit Care Med* ; 24(3):475-481,1996.

HERMAN, L.;FUHRMAN, B.;PAPO, M., et al. Cardiorespiratory effects of perfluorocarbon-associated gas exchange at reduced oxygen concentrations. *Crit Care Med* ; 23(3):553-559,1995.

HIRSCHL, R.;CONRAD, S.;KAISER, R., et al. partial liquid ventilation in adult patients with ards. A multicenter phase I-II trial. *Ann Surg* ; 228(5):692-700,1998.

HIRSCHL, R.;MERZ, S.;MONTROYA, P., et al. Development and application of a simplified liquid ventilator. *Crit Care Med* ; 23(1):157-163,1995.

HIRSCHL, R.;PARENT, A.;TOOLEY, R., et al. Liquid ventilation improves pulmonary function, gas exchange, and lung injury in a model of respiratory Failure. *Ann Surg* ; 221(1):80-89,1995.

HIRSCHL, R.;PRANIKOFF, T.;GAUGER, P., et al. Liquid ventilation in adults, children, and full-term neonates. *Lancet* ; 346(4):1201-1202,1995.

HIRSCHL, R.;PRANIKOFF, T.;WISE, C., et al. Initial Experience with partial liquid ventilation in adult patients with the acute respiratory distress syndrome. *JAMA* ; 275(5):383-389,1996.

HIRSCHL, R.;TOOLEY, R.;PARENT, A.;JOHNSON, A.;BARTLETT, R. Evaluation of gas exchange, pulmonary compliance, and lung injury during total and partial liquid ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* ; 24(6):1001-1008,1996.

HOLADAY, D.;FISEOROVA-BERGEROVA, V.;MODELL, J. Uptake, distribution, and excretion of fluorocarbon FX-80 (Perfluorobutyl Perfluorotetrahydrofuran) during liquid breathing in the dog. *Anesthesiology* ; 37(4):387-394,1972.

HOMATAS, J.;BRYANT, L.;EISEMAN, B. Time limits of cadaver lung viability. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 56:132-140,1968.

HOOD, C.;MODELL, J. A Morphologic study of long-term retention of fluorocarbon after liquid ventilation. *Chest* ; 118(5),2000.

ITANO, H.;AOE, M.;ICHIBA, S., et al. Partial liquid ventilation for acute allograft dysfunction after canine lung transplantation. *Ann Thorac Surg* ; 67:332-339,1999.

JACKSON, J.;WHITE, C.;MCMURTY, I.;BERGER, E.;REPINE, J. Dimethylthiourea decreases acute lung edema in phorbol myristate acetate-treated rabbits. *J Appl Physiol* ; 61:353-360,1986.

JONES, M.;HSIEH, C.;YOSHIKAWA, K.;PATTERSON, G.;COOPER, J. A new model for assessment of lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 96:608-614,1988.

KAISERS, U.;KULHEN, R.;KESKE, U., et al. Superimposing positive end-expiratory pressure during partial liquid ventilation in experimental lung injury. *Eur Resp J* ; 11:1035-1042,1998.

KAWAMAE, K.;PRISTINE, G.;CHIUMELLO, D.;TREMBLAY, L.;SLUTSKY, A. partial liquid ventilation decreases serum tumor necrosis factor-alpha concentrations in a rat acid aspiration lung injury model. *Crit Care Med* ; 28(2):479-483,2000.

KESHAVJEE, S.;YAMAZAKI, F.;CARDOSO, P., et al. A method of safe 12-hour pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 98:529-534,1989.

KIRMSE, M.;FUJINO, Y.;HESS, D.;KACMAREK, R. Positive end-expiratory pressure improves gas exchange and pulmonary mechanics during partial liquid ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* ; 158:1550-1556,1998.

KISHIOKA, C.;DORIGHI, M.;RUBIN, B. Perfluorooctyl Bromide (Perflubron) stimulates mucin secretion in the ferret trachea. *Chest* ; 115(3):823-828,1999.

KLEPETKO, W.;LOHNINGER, A.;WISSER, W., et al. Pulmonary surfactant in bronchoalveolar lavage after canine lung transplantation: effect of l-carnitine application. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 99:1048-58.,1990.

KOEN, P.;WOLFSON, M.;SHAFFER, T. Fluocarbon ventilation: maximal expiratory flows and CO₂ elimination. *Pediatr Res* ; 24:291-296,1988.

KOHMANN, J.;SILVA, U.;MADKE, G., et al. Perfusão pulmonar anterógrada versus retrógrada na preservação pulmonar para transplante em modelo canino de viabilidade pulmonar pós-morte. *J Pneumol* ; 25(2):78-83.,1999.

KOLEFF, M.;SCHUSTER, D. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* ; 332(1):27-37,1995.

KYLSTRA, J.;PAGANELLI, C.;LANPHIER, E. Pulmonary gas exchange in dogs ventilated with hyperbarically oxygenated liquid. *J Appl Physiol* ; 21(1):177-184,1966.

KYLSTRA, J.;SHOENFISCH, W. Alveolar surface tension in fluorocarbon-filled lungs. *J. Appl. Physiol.* ; 33(1):32-35,1972.

LANGE, N.;KOZLOWSKI, J.;GUST, R.;SHAPIRO, S.;SCHUSTER, D. Effect of partial liquid ventilation on pulmonary vascular permeability and edema after experimental acute lung injury. *Am J Resp Crit Care Med* ; 162:271-277,2000.

LEACH, C.;FUHRMAN, B.;MORIN III, F.;RATH, M. Perfluorocarbon-associated gas exchange (partial liquid ventilation) in respiratory distress syndrome: a prospective, randomized, controlled study. *Crit Care Med* ; 21(9):1270-1278,1993.

LEACH, C.;GREENSPAN, J.;RUBENSTEIN, D., et al. Partial liquid ventilation with perfluorbron in premature infants with severe respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* ; 335(11):761-767,1996.

LEACH, C.;HOLM, B.;MORIN III, F., et al. Partial liquid ventilation in premature lambs with respiratory distress syndrome: efficacy and compatibility with exogenous surfactant. *J Pediatr* ; 126(3):412-420,1995.

LIM, C.;KOH, Y.;JUNG, B., et al. An optimal dose of perfluorocarbon for respiratory mechanics in partial liquid ventilation for dependent lung-dominat acute lung injury. *Chest* ; 117(1):199-204,2000.

LIM, C.;KOH, Y.;SHIM, T., et al. The effect of varying inspiratory to expiratory ratio on gas exchange in partial liquid ventilation. *Chest* ; 116(4):1032-1038,1999.

LIMA, O.;GOLDBERG, M.;PETERS, W. et al. Bronchial omentopexy in canine lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 83:418-421,1982.

LOEHE, F.;MUELLER, C.;BITTMANN, I.;MESSMER, K.;SCHILDBERG, F. Influence of long-term preservation with endobronchially administered perfluorodecalin on pulmonary graft function. *Transplantation* ; 70(10):1417-1424,2000.

LOER, S.;TARNOW, J. Effects of partial liquid ventilation with perfluorocarbons on pressure-flow relationships, vascular compliance, and filtration coefficients of isolated blood-prefused rabbit lungs. *Crit Care Med* ; 26(12):2037-2041,1998.

LOER, S.;WOLFGANG, S.;EBEL, D.;TARNOW, J. effects of partial liquid ventilation on regional pulmonary blood flow distribution of isolated rabbit lungs. *Crit Care Med* ; 28(5):1522-1522,2000.

LOWE, C.;SHAFFER, T. Pulmonary vascular resistance in the fluorocarbon-filled lung. *J. Appl. Physiol.* ; 60(1):154-159,1986.

LOWE, C.;TUMA, R.;SIVIERI, E.;SHAFFER, T. Liquid ventilation: cardiovascular adjustments with secondary hyperlactatemia and acidosis. *J. Appl. Physiol.* ; 47(5):1051-1057,1979.

LOWESTEIN, E.;LINCOLN, J.;MODELL, J.;AUSTEN, W.;LAVER, M. Preservation of excised canine lungs by ventilation with liquid perfluorocarbon. *Federation Proc.* ; 29(5):1775-1777,1970.

LUEDERS, M.;WEISWASSER, J.;ALY, H.;STOLAR, C. Changes in pulmonary vascular resistance in response to partial liquid ventilation. *J Pediatr Surg* ; 33:85-90,1998.

MATES, E.;HILDEBRNADT, J.;JACKSON, J.;TARCZY-HORNOCH, P.;HLASTALA, M. Shunt and ventilation-perfusion distribution during partial liquid ventilation in healthy piglets. *J Appl Physiol* ; 82(3):933-942,1997.

MATTHAY, M. Acute lung injury. *Chest* ; 116(1):119-126,1999.

MAX, M.;KUHLEN, R.;FALTER, F., et al. Effect of PEEP and inhaled nitric oxide on pulmonary gas exchange during gaseous and partial liquid ventilation with small volumes of perfluorocarbon. *Acta Anaesthesiol Scand* ; 44:383-390,2000.

MAX, M.;KUHLEN, R.;LOPEZ, F., et al. Combining partial liquid ventilation and prone position in experimental acute lung injury. *Anesthesiology* ; 91(3),1999.

MAYER, E.;PUSKAS, J.;CARDOSO, P., et al. Reliable eighteen-hour lung preservation at 4C and 10C by pulmonary artery flush after high-dose prostaglandin E1 administration. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 103:1136-1142,1992.

MCCORD, J. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *New Engl J Med* ; 312:159-163,1985.

MERZ, U.;KELLINGHAUS, M.;HAÜSLER, M., et al. partial liquid ventilation with surfactant: effects on gas exchange and lung pathology in surfactant-depleted piglets. *Intensive Care Med* ; 26:109-116,2000.

MERZ, U.;KLOSTERHALFEN, B.;KELLINGHAUS, M., et al. Effects of single and multiple doses of perfluorocarbon in comparison with continuous partial liquid ventilation on gas exchange and lung pathology in newborn surfactant-depleted pigs. *Crit Care Med* ; 29(3),2001.

METRAS, H. Note preliminaire sur la greffe totale du poumon chez le chien. *C R Acad Sci (Paris)* ; 231:1176-1178,1950.

MILLER, T.;MILESTONE, B.;STERN, R.;SHAFFER, T.;WOLFSON, M. Effect of single versus multiple dosing on perfluorchemical distribution and elimination during partial liquid ventilation. *Pediatr Pulmonol* ; 27:410-418,1999.

MILLER, T.;MILESTONE, B.;STERN, R.;SHAFFER, T.;WOLFSON, M. Effects of perfluorochemical distribution and elimination dynamics on cardiopulmonary function. *J Appl Physiol* ; 90, Issue 3, 839-849(3):839-849,2001.

MODELL, J.;CALDERWOOD, H.;RUIZ, B.;THAM, M.;HOOD, C. Liquid ventilation of primates. *Chest* ; 69(1):79-81,1976.

MODELL, J.;GOLLAN, F.;GIAMMONA, S.;PARKER, D. Effect of fluorocarbon liquid on surface tension proprieties of pulmonary surfactant. *Chest* ; 57(3):263-265,1970.

MODELL, J.;HOOD, I.;KUCK, E.;RUIZ, B. Oxygention by ventilation with fluorocarbon liquid (FX-80). *Anesthesiology* ; 34(4):312-320,1971.

MODELL, J.;NEWBY, E.;RUIZ, B. Long-term survival of dogs after breathing oxygenated fluorocarbon liquid. *Federation Proc.* ; 29(5):1731-1736,1970.

MOSKOWITZ, G. A Mechanical respirator for control of liquid breathing. *Federation Proc.* ; 29(5):1751-1752,1970.

MROZEK, J.;SMITH, K.;BING, D., et al. Exogenous surfactant and partial liquid ventilation. *Am J Resp Crit Care Med* ; 156:1058-1065,1997.

MROZEK, J.;SMITH, K.;SIMONTON, S., et al. perfluorocarbon priming and surfactant: physiologic and pathologic effects. *Crit Care Med* ; 27(9):1916-1922,1999.

NELEMS, J.;REBUCK, A.;COOPER, J., et al. Human lung transplantation. *Chest* ; 78:569-573,1980.

NOSÉ, Y.;KON, T.;WEBER, D., et al. Physiological effects of intravascular fluorocarbon liquids. *Federation Proc.* ; 29(5):1789-1804,1970.

NOVICK, R.;VELDHUIZEN, R.;POSSMAYER, F., et al. Pulmonary surfactant in bronchovascular lavage after canine lung transplantation: Effect of L-carinitine application. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 108:259-268,1994.

OSBUORN, J. A method of estimating the solubility of gases in liquids. *Federetion Proc.* ; 29(5):1704-1707,1970.

OVERBECK, M.;PRANIKOFF, T.;YADAO, C.;HIRSCHL, R. Efficacy of perfluorocarbon partial liquid ventilation in a large animal model of acute respiratory failure;. *Crit Care Med* ; 24(7):1208-1214,1996.

PAPO, M.;PACZAN, P.;FUHRMAN, B., et al. Perfluorocarbon-associated gas exchange improves oxygenation, lung mechanics, and survival in a model of adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* ; 24(3):466-474,1996.

PARQUIN, F.;LADURIE, F.;CERRINA, J., et al. Outcome of immediate pulmonary edema after lung transplantation. *Am J Respirat Crit Care Med* ; 149:A733,1994.

PATEL, M.;SZANTO, P.;YATES, B., et al. Survival and histopathologic changes in lungs of hamsters following synthetic liquid breathing. *Federation Proc.* ; 29(5):1740-1745,1970.

PETERSON, R. Measurement of the solubility of gases in oils. *Federation Proc.* ; 29(5):1714-1716,1970.

QUINTEL, M.;HEINE, M.;HIRSCHIL, R.;TILLMANNNS, R.;WESSENDORF, V. Effects of partial liquid ventilation on lung injury in a model of acute respiratory failure: A histologic and morphometric analysis. *Crit Care Med* ; 26(5):833-843,1998.

REICKERT, C.;PRANIKOFF, T.;OVERBECK, M., et al. The pulmonary and systemic distribution and elimination of perflubron from adult patients treated with partial liquid ventilation. *Chest* ; 119(2):515-522,2001.

REPINE, J.;CHERONIS, J.;RODELL, T.;LINAS, S.;PATT, A. Pulmonary oxygen toxicity and ischemia-reperfusion injury. a mechanism in common involving xanthine oxidase and neutrophils. *Am Rev Resp Dis* ; 136:483-485,1987.

RICARD, J.;MARTIN-LEFÈVRE, L.;DREYFUSS, D.;SUMON, G. Alveolar permeability and liquid absorption during partial liquid ventilation of rats with perfluobron. *Am J Crit Care Med* ; 161:44-49,2000.

RICH, P.;REICKERT, C.;MAHLER, S., et al. Prolonged partial liquid ventilation in spontaneously breathing awake animals. *Crit Care Med* ; 27(5):941-945,1999.

ROSEN, G.;FREEMAN, B. Detection of superoxide generated by endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 81:7269-7273,1985.

ROTTA, A.;GUNNARSSON, B.;FUHRMAN, B.;STEINHORN, D. Partial liquid ventilation with perfluorobron attenuates in vivo oxidative damage to proteins and lipids. *Crit Care Med* ; 28(1):202-208,2000.

ROTTA, A.;STEINHORN, D. Partial liquid ventilation reduces pulmonary neutrophil accumulation in an experimental model of systemic endotoxemia and acute lung injury. *Crit Care Med* ; 26(10):1707-1715,1998.

RUEFER, R. Surfactant and alveolar surface forces after breathing of inert fluorinated liquid. *Federation Proc.* ; 29(5):1813-1815,1970.

SACHDEVA, R.;GUNTUPALLI, K. Acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Clin* ; 13(3):503-521,1997.

SAGA, S.;MODELL, J.;CALDERWOOD, H., et al. Pulmonary function after ventilation with fluorocarbon liquid P-12F (Caroxin-F). *J. Appl. Physiol.* ; 34(2):160-164,1973.

SAGONE, A.;HUSNEY, R.;WEWERS, M., et al. Effect of dimethylthiourea on the neutrophil myeloperoxidase pathway. *J Appl Physiol* ; 67:1056-1062,1989.

SARGENT, J.;SEFFEL, R. Properties of perfluorinated liquids. *Federation Proc.* ; 29(5):1699-1703,1970.

SARSAM, M.;YONAN, N.;DEIRANIYA, A.;RAHMAN, A. Retrograde pulmonaryplegia for lung preservation for lung preservation in clinical transplantation: A new technique. *J Heart Lung Transplant* ; 12:494-498,1993.

SEKINS, K. Recent innovations in total liquid ventilation system and component design. *Biomed Instrum Technol* ; 33(3):277-284,1999.

SHAFFER, T.;MOSKOWITZ, G. Demand-controlled liquid ventilation of the lungs. *J. Appl. Physiol.* ; 36(2):208-213,1974.

SHAFFER, T.;WOLFSON, M.;CLARK, L. Liquid ventilation. *Pediatr Pulmonol* ; 14:102-109,1992.

SLOVITER, H.;YAMADA, H.;OGOSHI, S. Some effects of intravenously administered dispersed fluorochemical in animals. *Federation Proc.* ; 29(5):1755-1757,1970.

SMITH, T.;STEINHORN, D.;THUSU, K.;FUHRMAN, B.;DANDONA, P. A liquid perfluorochemical decreases in vitro production of reactive oxygen species by alveolar macrophages. *Crit Care Med* ; 23(9):1533-1539,1995.

STEEN, S.;INGEMANSSON, R.;BUDRIKIS, A., et al. Successful transplantation of lungs topically cooled in the non-heart-beating donor for 6 hours. *Ann Thorac Surg* ; 63:345-351,1997.

STEEN, S.;SJÖBERG, T.;PIERRE, L., et al. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet* ; 357:825-829,2001.

STEINHORN, D.;LEACH, C.;FUHRMAN, B.;HOLM, B. partial liquid ventilation enhances surfactant phospholipid production. *Crit Care Med* ; 24(7):1252-1256,1996.

STEINHORN, D.;PAPO, M.;ALJADA, A., et al. Liquid ventilation attenuates pulmonary oxidative damage. *J Crit Care* ; 14(1):20-28,1999.

STEINHORN, D.;PAPO, M.;ALJADA, A., et al. Partial liquid ventilation (lpv) with perflubron decreases oxidative damage to the lung during experimental injury. *Crit Care Med* ; 24:A148,1996.

TARCZY-HORNOCH, P.;HILDEBRANDT, J.;JACKSON, J. Gravitational effects on volume distribution in a model of partial and total liquid ventilation. *Respir Physiol* ; 120:125-138,2000.

TARCZY-HORNOCH, P.;HILDEBRANDT, J.;STANDAERT, T.;JACKSON, J. Surfactant replacement increases compliance in premature lamb lungs during partial liquid ventilation in situ. *J. Appl. Physiol.* ; 84(4):1316-1322,1998.

THOMAS, S.;GRADON, L.;PRATSINIS, S., et al. Perfluorocarbon compound aerosols for delivery to the lung as potential ^{19}F magnetic resonance reporters of regional pulmonary PO_2 . *Invest Radiol* ; 32(1):29-38,1997.

THOMASSEN, M.;BUHROW, L.;WIEDEMANN, H. Perflubron decreases inflammatory cytokine production by human alveolar macrophages. *Crit Care Med* ; 25(12):2045-2047,1997.

TOOLEY, R.;HIRSCHL, R.;PARENT, A.;BARTLETT, R. Total liquid ventilation with perfluorocarbons increases pulmonary end-expiratory volume and compliance in the setting of lung atelectasis. *Crit Care Med* ; 24(2):268-273,1996.

TORONTO LUNG TRANSPLANT GROUP. Sequential bilateral lung transplantation for paraquat poisoning. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 89:734-742,1985.

TORONTO LUNG TRANSPLANT GROUP. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* ; 314:1140-1145,1986.

TRINER, L.;VEROSKY, M.;HABIF, D.;NAHAS, G. Perfusion of isolated liver with fluorocarbon emulsions. *Federation Proc.* ; 29(5):1778-1781,1970.

TUAZON, J.;MODELL, J.;HOOD, I.;SWENSON, E. Pulmonary function after ventilation with fluorocarbon liquid (Caroxin -D). *Anesthesiology* ; 38(2):134-140,1973.

TÜTÜNCÜ, A.;AKPIR, K.;MULDER, P.;ERDMANN, W.;LACHMANN, B. Intratracheal perfluorocarbon administration as an aid in the ventilatory management of respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* ; 79:1083-1093,1993.

TÜTÜNCÜ, A.;FAITHFULL, S.;LACHMANN, B. Comparison of ventilatory support with intratracheal perfluorocarbon administration and conventional mechanical ventilation in animals with acute respiratory failure. *Am Rev Respir Dis* ; 148:785-792,1993.

UCHIDA, T.;NAKAZAWA, K.;YOKOYAMA, K.;MAKITA, K.;AMAHA, K. The combination of partial liquid ventilation and inhaled nitric oxide in the severe oleic acid lung injury model. *Chest* ; 113(6):1658-1666,1998.

ULINCNY, K.;EGAN, T.;LAMBERT, C., et al. Cadaver lung donors: effect of preharvest ventilation on graft function. *Ann Thorac Surg* ; 55:1185-1191,1993.

VEITH, F.;SINHA, S.;GRAVES, J.;BOLEY, S.;DOUGHERTY, J. Ischemic tolerance of the lung: Effect of ventilation and inflation. *J Thorac Cardiovasc Surg* ; 61:804-810,1971.

VELDHUIZEN, R.;LEE, J.;SANDLER, D., et al. Alterations in pulmonary surfactant composition and activity after experimental lung transplantation. *Am Rev Respir Dis* ; 148:208-15,1993.

WASCHKE, K.;FRIETSCH, T. Modified haemoglobins and perfluorocarbons. *Curr Opinion Anaesthesiol* ; 12(2):195-202,1999.

WEIS, C.;FOX, W.;PHILLIPS, C.;WOLFSON, M.;SHAFFER, T. Perfluorochemical elimination from the lungs: effect of initial dose. *Pediatr Pulmonol* ; 30:324-329,2000.

WHITE, J.;TANSER, P.;ANTHONISEN, N., et al. Human lung homotransplantation. *Can Med Assoc J* ; 94:1199-1209,1966.

WOLFSON, M.;GREENSPAN, J.;SHAFFER, T. Pulmonary administration of vasoactive substances by perfluorochemical ventilation. *Pediatrics* ; 97(4):449-455,1996.

WOLFSON, M.;GREENSPAN, J.;SHAFFER, T. Liquid-assisted ventilation: an alternative respiratory modality. *Pediat Pulmonol* ; 26:42-63,1998.

WOLFSON, M.;KECHNER, N.;ROACHE, R., et al. Perfluorochemical rescue after surfactant treatment: effect of perflubron dose and ventilatory frequency. *J Appl Physiol* ; 84(2):624-640,1998.

WOODS, C.;NESLUND, G.;KORNBRUST, E.;FLAIM, S. Perflubron attenuates neutrophil adhesion to activated endothelial cells in vitro. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* ; 278:1008-1017,2000.

ZOBEL, G.;RODL, S.;URLESBERGER, B., et al. The effect of positive end-expiratory pressure during partial liquid ventilation in acute injury in piglets. *Crit Care Med* ; 27(9):1934-1939,1999.