

I

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS**

TESE DE DOUTORADO

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE
METILPREDNISOLONA EM PULMÕES DE RATOS
DOADORES EM MORTE ENCEFÁLICA SUBMETIDOS A
TRANSPLANTE PULMONAR**

Luiz Felipe Lopes Araujo

Porto Alegre, 2012

I

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE
METILPREDNISOLONA EM PULMÕES DE RATOS
DOADORES EM MORTE ENCEFÁLICA SUBMETIDOS A
TRANSPLANTE PULMONAR**

Luiz Felipe Lopes Araujo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Feijó Andrade

Porto Alegre, 2012

CIP – Catalogação na Publicação

Araujo, Luiz Felipe Lopes

Efeitos da administração sistêmica de metilprednisolona em pulmões de ratos doadores em morte encefálica submetidos a transplante pulmonar / Luiz Felipe Lopes Araujo. -- 2012.

90 f.

Orientador: Cristiano Feijó Andrade.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Morte encefálica. 2. Metilprednisolona. 3. Estresse oxidativo. 4. Modelo experimental. 5. Transplante pulmonar. I. Andrade, Cristiano, orient. II. Título.

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, José Marcos, Suzana, e Salene (in memoriam), que me transmitiram o caráter, a responsabilidade e a determinação necessárias para conquistar meu espaço e meus sonhos, sempre me apoiando, indiscutivelmente, com amor e carinho incondicionais, por mais cruzados que tenham sido os caminhos dessa rica família.

Aos meus tios catarinenses, Lile, Ernesto e Élbio, que mesmo longe, estão sempre por perto, proporcionando carinho e alegria, além de um lugar prazeroso e acolhedor, sempre me lembrando que existe alguém muito especial me protegendo, a quem minhas atitudes imagino que pudesse provocar um doce e sincero sorriso de orgulho.

Ao meu tio, Dani, por ter se apresentado como irmão mais velho e modelo de homem, por vezes de pai, tendo proporcionado uma infância alegre e ensinando minhas primeiras noções de amizade e companheirismo.

À minha vó, Ignês, minha terceira vó (porém a mais presente), admirável pela lucidez e disposição que faz seus mais de 90 anos serem intrigantemente duvidosos.

Aos meus amigos, que fazem minha família maior, sendo inviável citá-los individualmente, mas com a segurança de que cada qual sabe sua importância.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos alunos de medicina Arthur Rodrigo Ronconi Holand e Éverton Franco Silva, pela dedicação por vezes sobrehumana durante todas as fases do projeto e de nossas demais pesquisas.

Agradeço ao biólogo Luiz Felipe Forgiarini pelo grande apoio na coleta e análise dos resultados.

Agradeço à Enfermeira Marta Justina Giotti Cioato e à médica veterinária Fabíola Schons Meyer, pela imensa cooperação na Unidade de Experimentação Animal, principalmente pela paciência e compreensão nas horas mais difíceis.

Agradeço ao Dr. Cristiano pela confiança e pela aposta não só no período do projeto ou pela tese em si, mas por ser um grande apoio na minha vida profissional.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O transplante pulmonar é a única opção terapêutica para determinados pacientes com doença pulmonar em estágio terminal. A maioria dos transplantes de pulmão é realizada a partir de doadores em morte encefálica, condição que per si pode comprometer o sucesso do procedimento. A fisiopatologia da morte encefálica é complexa e envolve mecanismos hemodinâmicos, simpáticos e inflamatórios. A administração de metilprednisolona 60 minutos após indução da morte encefálica reduz a atividade inflamatória em pulmões de ratos. **OBJETIVO:** Avaliar os efeitos do tratamento com metilprednisolona em pulmões de ratos transplantados a partir de ratos doadores induzidos à morte encefálica quando administrada 60 minutos após indução da mesma. **MÉTODOS:** doze ratos Wistar foram randomizados e anestesiados em 2 grupos (n=6): controle: indução de morte encefálica e administração de solução salina; metilprednisolona (MET): indução de morte encefálica e administração de metilprednisolona 60 minutos após. Os animais foram observados e ventilados por 120 minutos e depois submetidos a transplante pulmonar. Foram avaliados parâmetros hemodinâmicos e gasométricos, escore histológico, dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), superóxido dismutase (SOD), TNF- α e interleucina-1 β (IL-1 β). **RESULTADOS:** houve redução significativa dos níveis de TNF- α e IL-1 β no grupo que recebeu metilprednisolona (p=0,0084; p=0,0155, respectivamente). Não houve diferença significativa na atividade do TBARS e SOD entre os grupos controle e MET (p=0,2644; p=0,7461, respectivamente). Não houve diferença significativa na gasometria, nos parâmetros hemodinâmicos, e nas alterações histológicas entre os grupos controle e MET. **CONCLUSÃO:** a utilização de metilprednisolona após a morte encefálica em ratos doadores reduz a atividade inflamatória em pulmões transplantados, mas não tem influencia sobre o estresse oxidativo.

PALAVRAS-CHAVE: Transplante pulmonar, Morte encefálica, Modelo experimental, Metilprednisolona, Estresse oxidativo.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Lung transplantation is the only therapeutic option for a subset of patients with end-stage lung disease. Most lung transplantations are performed using brain-dead donors, a condition that compromises the success of the procedure. The pathophysiology of brain death is complex and involves haemodynamics, the sympathetic nervous system and inflammatory mechanisms. Administering methylprednisolone 60 minutes after inducing brain death in rats has been shown to modulate pulmonary inflammatory activity. **OBJECTIVE:** To evaluate the effects of methylprednisolone on transplanted rat lungs from donors treated 60 minutes after brain death. **METHODS:** Twelve Wistar rats were anaesthetised and randomly assigned to 1 of 2 groups (n=6): a control group that underwent the induction of brain death and the administration of saline solution and a methylprednisolone (MET) group that underwent the induction of brain death and the administration of methylprednisolone after 60 minutes. All of the animals were observed and ventilated for 120 minutes and then submitted to lung transplantation. We evaluated haemodynamic and blood gas parameters, the histologic score, the lung tissue determination of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), the level of superoxide dismutase (SOD), the level of TNF- α and the level of interleukin-1 β (IL-1 β). **RESULTS:** There was a significant reduction in the levels of TNF- α and IL-1 β in the group that received methylprednisolone ($p=0.0084$ and $p=0.0155$, respectively). There were no significant differences in TBARS and SOD between the control and MET groups ($p=0.2644$ and $p=0.7461$, respectively). There were no significant differences in the blood gas parameters, the haemodynamic parameters and the histologic alterations between the control and MET groups. **CONCLUSION:** The administration of methylprednisolone after brain death in donor rats reduces inflammatory activity in transplanted lungs but has no influence on oxidative stress.

KEYWORDS: Lung transplantation, Brain death, Experimental model, Methylprednisolone, Oxidative stress.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	VIII
Lista de Figuras.....	XI
Lista de Tabelas.....	XII
Lista de Quadros.....	XIII
1. Introdução.....	1
2. Revisão da Literatura.....	6
2.1. Transplante Pulmonar.....	6
2.1.1. Histórico do Transplante Pulmonar.....	6
2.1.2. Desafios no Transplante Pulmonar.....	6
2.2. Morte Encefálica.....	8
2.2.1. Definição e Diagnóstico de Morte Encefálica.....	8
2.2.2. Doação de Órgãos e Recomendações da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO).....	14
2.2.3. Fisiopatologia da Morte Encefálica.....	15
2.2.4. Alterações Hemodinâmicas.....	17
2.2.5. Alterações Endócrinas.....	18
2.2.6. Alterações Morfológicas.....	20
2.2.7. Alterações Metabólicas.....	21
2.2.8. Alterações Inflamatórias, Imunológicas e Genéticas.....	22
2.2.9. Morte Encefálica e Ressuscitação Hormonal em Estudos Experimentais.....	25
2.3. Edema Pulmonar Neurogênico.....	26
2.3.1. Definição.....	26
2.3.2. Epidemiologia.....	26
2.3.3. Modelos Experimentais.....	27

2.3.4. Fisiopatologia.....	28
2.3.5. Mecanismo Hemodinâmico.....	29
2.3.6. Mecanismo Inflamatório.....	31
2.3.7. Interação Entre os Mecanismos Simpático, Hemodinâmico e Inflamatório.....	33
2.3.8. Alterações Morfológicas.....	34
2.3.9. Tratamento.....	35
2.4. Corticóides no Transplante Pulmonar.....	36
2.4.1. Mecanismo de Ação.....	36
2.4.2. Administração e Estudos Clínicos.....	37
2.4.3. Estudos Experimentais.....	39
3. Justificativa.....	40
4. Objetivos.....	41
4.1. Objetivo Geral.....	41
4.2. Objetivos Específicos.....	41
5. Referências da Tese.....	42
6. Artigo.....	56
7. Conclusões.....	75
8. Considerações Finais.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTO	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
AP1	Proteína ativador um
Ca⁺⁺	Cálcio iônico
CFM	Conselho Federal de Medicina
CONTROL	Grupo controle
CXCL1	Ligante da citocina (<i>motif C-X-C</i>) um
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DPE	Disfunção primária do enxerto
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EPN	Edema pulmonar neurogênico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FPI	Fibrose pulmonar idiopática
GABA_A	Ácido gama-aminobutínico (receptor A para)
GRO-α	Genes relacionados ao crescimento alfa

ICAM	Molécula de adesão intracelular
IFN	Interferon
IFN-β	Interferon beta
IFN-γ	Interferon gama
IL	Interleucina
IL-1	Interleucina um
IL-1β	Interleucina um beta
IL-4	Interleucina quatro
IL-6	Interleucina seis
IL-8	Interleucina oito
IL-10	Interleucina dez
IL-17	Interleucina dezessete
IR	Isquemia/reperfusão
HIS	Histological score
HPP	Hipertensão pulmonar primária
LBA	Lavado broncoalveolar
LPS	Lipopolissacarídeos
MAP	<i>Mean arterial pressure</i>
MET	Grupo metilprednisolona
MPO	Mieloperoxidase

MHC	Moléculas do complexo maior de histocompatibilidade
MyD88	Proteína de resposta primária de diferenciação mielóide
Na⁺	Sódio iônico
NFκB	Fator nuclear kappa beta
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico-sintetase
PaCO₂	Pressão parcial de monóxido de carbono
PaO₂	Pressão parcial de oxigênio
PEEP	Pressão positiva expiratória final
pH	Potencial hidrogeniônico
SARA	Síndrome da angústia respiratória do adulto
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TLR	Receptores <i>Toll-like</i>
TRIF	Adaptador de indução de interferon beta
VCAM	Proteína de adesão celular vascular
VM	Ventilação mecânica

LISTA DE FIGURAS

Artigo Científico

Figure 1. Oxidative stress and brain death.....	72
Figure 2. Oxidative stress and brain death.....	72
Figure 3. Pulmonary TNF- α assay.....	73
Figure 4. Pulmonary IL-1 β assay.....	73
Figure 5. Histological score.....	74
Figure 6. Microscopic optical analysis of haematoxylin-eosin stain.....	74

LISTA DE TABELAS

Artigo

Table 1. Donors blood gases and mean arterial pressure..... 71

Table 2. Recipients blood gases and mean arterial pressure..... 71

LISTA DE QUADROS

Revisão da Literatura

Quadro 1. Resolução do Conselho Federal de Medicina Brasileiro referente ao diagnóstico de morte encefálica.....	10
Quadro 2. Termo de Declaração de Morte Encefálica.....	11

1. INTRODUÇÃO

O transplante pulmonar é a única opção terapêutica para determinados pacientes com doença pulmonar em estágio terminal. As principais indicações são: doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (26,5%), fibrose pulmonar idiopática (FPI) (25,1%), fibrose cística (16,4%), e enfisema pulmonar por deficiência de α -1-antitripsina (3,2%)[1]. Na América do Sul as indicações são DPOC (30,2%), FPI (25,4%), fibrose cística (22,2%) e hipertensão pulmonar primária (HPP) (3,2%)[1].

O número de doadores não tem acompanhado o crescente número de pacientes que são incluídos nas listas de espera, tornando-as mais longas. Cerca de 10-20% dos potenciais doadores cadavéricos possuem pulmões considerados adequados para transplante, sendo esta a razão do pulmão ser o órgão sólido menos aproveitado em doadores de múltiplos órgãos[2]. A falência primária do enxerto também é outro limitante no sucesso dos programas de transplante, fazendo com que a sobrevida em 1 ano seja de 78%, enquanto que em 5 anos fique em torno de 50%[3].

A principal causa de mortalidade precoce é a disfunção primária do enxerto (DPE), ou lesão pulmonar aguda, presente em 15-50% dos transplantes[4, 5]. Esta condição pode levar à bronquiolite obliterante, principal causa de rejeição tardia do enxerto pulmonar[6], e implica em um maior período de internação na unidade de terapia intensiva, elevando os riscos e custos[5].

A disfunção primária do enxerto é um diagnóstico de exclusão quando descartadas outras causas de lesão pulmonar aguda, como rejeição aguda, pneumonia, e obstrução vascular. É uma síndrome que ocorre de forma precoce pós-transplante consistindo em dificuldade de oxigenação, edema pulmonar, diminuição da complacência pulmonar, infiltrado difuso ao RX de tórax, com necessidade de maior tempo de ventilação mecânica (VM). O padrão radiográfico pode se apresentar

precocemente ou ser mais progressivo. Implica em elevada mortalidade, prolongado período de internação, e recuperação clínica notavelmente mais arrastada, com função pulmonar a longo prazo inferior a pacientes que não a desenvolvem[5].

Presumivelmente o tempo de isquemia tem papel importante na sua etiologia, mas não isolado, pois a DPE pode ocorrer com tempo de isquemia inferior a 3 horas. Rejeição aguda ainda não se configura como causa bem estabelecida, mas fatores imunológicos podem contribuir para seu desenvolvimento ou potencialização, e terapia anti-globulínica pode ter algum efeito protetor. Fatores relacionados ao doador também não justificam isoladamente sua etiologia[5].

Hipertensão pulmonar prévia pode ser um fator de risco, e esta condição pode ser determinante na seleção de pacientes para transplante unilateral. Outro possível fator de risco é a utilização de *by-pass* cardiopulmonar, que pode potencializar os efeitos da lesão de isquemia-reperfusão (IR). O achado histológico característico é lesão difusa alveolar grave[5].

O mecanismo da lesão pulmonar aguda é diretamente relacionado com a liberação de espécies ativas de oxigênio, ativação endotelial, liberação de citocinas e sequestro neutrofílico[7, 8]. Há evidências de que o pulmão é o primeiro órgão afetado pela isquemia antes de sua retirada[9, 10]. A maioria dos transplantes pulmonares é realizada com doadores em morte encefálica, e os resultados funcionais são piores quando comparados com doadores vivos, independentemente do tempo de isquemia[11]. Especula-se que esses resultados negativos sejam decorrentes dos eventos inflamatórios próprios da morte encefálica.

A morte encefálica resulta de dano grave ao tronco encefálico, com perda total e irreversível de suas funções. Em modelos experimentais esse dano inicial é acompanhado da elevação imediata dos níveis de adrenalina e noradrenalina plasmáticas, com consequente hipertensão e taquiarritmias[12-14]. Este breve período

hipertensivo é seguido por redução gradativa da pressão arterial e vasodilatação sistêmica[15-17]. Ocorrem também alterações endócrinas do eixo hipotálamo-hipofisário com níveis reduzidos de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), cortisol, triiodotironina, tiroxina, insulina e vasopressina[12, 15].

Nos pulmões, a lesão parece decorrer da ação sinérgica de duas síndromes distintas ocasionadas pela morte encefálica: o edema pulmonar neurogênico (EPN), e a resposta inflamatória[2]. O EPN tem sua origem na estimulação ou lesão ao sistema nervoso central. Dois mecanismos são sugeridos: o hemodinâmico e o simpático. Ambos se relacionam com a tempestade de catecolaminas que acompanha o dano do tronco encefálico. Foi reconhecido e inicialmente estudado no início do século vinte como complicação de eventos epiléticos, hemorragia subaracnóidea e traumatismo encefálico[18].

Estudos de necropsia em vítimas de lesão cerebral na Guerra do Vietnã demonstraram evidências de congestão e hemorragia pulmonar[19]. Subsequentemente, estudos em animais demonstraram EPN em coelhos submetidos à hidrocefalia por administração de fibrinogênio e trombina na cisterna magna[20].

O primeiro mecanismo envolvido na gênese do EPN é conhecido como *Blast Injury Theory*, e consiste na evidência experimental que resulta de alterações na permeabilidade capilar pulmonar por estresse hemodinâmico. O processo se inicia com uma descarga simpática após a morte encefálica, seguindo com estimulação alfa-adrenérgica e vasoconstrição sistêmica. O aumento da resistência vascular periférica ocasiona aumento da pressão do ventrículo e átrio esquerdos, com aumento da pressão arterial pulmonar. Estes eventos, além de lesarem diretamente os capilares e os alvéolos elevam a pressão hidrostática capilar pulmonar, com conseqüente edema. Estudos experimentais da década de 1950 usavam o termo “neuro-hemodinâmico” para o EPN[21, 22].

Estudos recentes têm avaliado os efeitos hemodinâmicos e a resposta inflamatória após morte encefálica. Bittner et al demonstraram elevação de citocinas e neutrófilos CD8 e CD11 no lavado broncoalveolar (LBA), além da ruptura da membrana alvéolo-capilar, em modelo experimental com ratos que foram submetidos à morte encefálica através da introdução de cateter de Fogarty no espaço peridural[23]. Estudo em cães com técnica semelhante demonstrou aumento das pressões arterial média sistêmica, arterial pulmonar, do átrio esquerdo e diastólica final no ventrículo direito após 4 horas de morte encefálica. O volume de líquido extravascular pulmonar também se elevou após 6 horas. Achados de microscopia eletrônica nas biópsias desses pulmões revelaram hemorragia alveolar, distensão capilar-alveolar, congestão pulmonar e edema pulmonar leve a moderado[24]. Outro estudo experimental demonstrou que animais submetidos a transplante pulmonar de doadores com morte encefálica apresentaram pior resultado funcional a longo prazo que com doadores sem morte encefálica, indicando papel importante da morte encefálica também nos eventos de rejeição crônica[25].

Há outras evidências de que a resposta inflamatória possui papel significativo no processo de lesão pulmonar pós trauma cerebral em estudos onde o uso de corticóides evitou ou retardou o surgimento de EPN[26-28]. Estes modelos indicaram que a utilização de corticóides no potencial doador pode aumentar o número de pulmões adequados para transplante[29]. Outro estudo que analisou retrospectivamente mais de 10.000 doadores em morte encefálica, onde 7% dos doadores recebeu corticoterapia e drogas vasoativas, confirmou esta possibilidade. Estudo recentemente concluído pelo nosso grupo mostrou que houve redução dos níveis de TNF- α tanto em ratos tratados com metilprednisolona 5 minutos após morte encefálica quanto em ratos tratados mais tardiamente (após 60 minutos)[30].

Há relatos demonstrando que doadores submetidos à corticoterapia e drogas vasoativas contribuem proporcionalmente para o aumento do número de órgãos

adequados para transplante. Instabilidade hemodinâmica ocorre em 80% dos potenciais doadores, sendo causa de 10% das perdas de doadores devido à hipotensão refratária à reposição volêmica e à administração de vasopressores[31]. Uma projeção estatística constatou que se todos os doadores tivessem sido submetidos a esses tratamentos cerca de 300 pulmões seriam acrescentados ao número de órgãos viáveis[32]. Mesmo assim, uso de vasopressores eleva o risco de disfunção cardíaca em doadores em morte encefálica[31].

Outro estudo retrospectivo analisou 119 doadores em morte encefálica divididos em 3 grupos: controle, corticoterapia isolada, terapia combinada. No momento do transplante, a pressão capilar pulmonar estava reduzida no grupo com terapia combinada[33]. Estudo similar constatou melhora na oxigenação de órgãos de doadores em morte encefálica submetidos à corticoterapia em comparação com doadores não submetidos.

A literatura demonstra que os enxertos não são imunologicamente inertes. Os fatores acima, especialmente a morte encefálica, “reprogramam” o enxerto em um órgão imunologicamente ativo. Logo, a imunossupressão deve iniciar já no doador. O tratamento imunossupressor do potencial doador após a confirmação da morte encefálica desponta como uma abordagem promissora na redução da ativação imunológica e no aumento das chances de sucesso do transplante pulmonar[34].

O tratamento, e principalmente a prevenção da disfunção primária do enxerto são abordagens de suma importância no atual contexto dos programas de transplante pulmonar.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Transplante pulmonar

2.1.1 Histórico do transplante pulmonar

O primeiro transplante pulmonar foi realizado em 1963 nos Estados Unidos pelo Dr. James Hardy. No entanto, o primeiro bem sucedido só foi realizado em 1983, pelo Dr. Bruce Reitz. Na América Latina, o primeiro procedimento a ser realizado foi em 1989 em Porto Alegre pelo Dr. José de Jesus Camargo[35].

O desenvolvimento de técnicas imunossupressoras efetivas foi fundamental para que os programas de transplante obtivessem bons resultados. Nas décadas de 1960 e 1970, este procedimento era frequentemente fatal. Somente após a introdução da ciclosporina, no início dos anos 80, se observou um impulso nos resultados dos programas de transplante[32], com a melhor prevenção de rejeição aguda que chega atualmente a ocorrer em cerca de 50% no primeiro ano[33].

2.1.2 Desafios no transplante pulmonar

O crescente número de indicações não tem sido acompanhado pelo número de doadores, tornando as listas de espera mais longas. Apenas 10-20% dos potenciais doadores em morte encefálica possuem pulmões adequados para o transplante em função da deterioração pulmonar[36]. O contato direto do pulmão com o meio externo (ar ambiente) o torna mais suscetível a agentes patogênicos, que aliados à imunossupressão podem levar a infecções graves e de difícil manejo. Em relação a outros órgãos sólidos, o transplante pulmonar é o procedimento menos executado devido à falta de doadores adequados[2]. Assim o pulmão permanece como o órgão sólido menos utilizado em doadores de múltiplos órgãos[2, 37].

Outro fator limitante para o sucesso dos programas de transplante pulmonar é a disfunção primária do enxerto, fazendo com que a sobrevida em 3 meses, 1 ano e 5 anos seja de 87%, 78% e 26-50%, respectivamente, sendo a principal causa de mortalidade precoce[3]. Esta condição faz necessária a ventilação mecânica prolongada, com maior permanência na unidade de terapia intensiva e todos os seus riscos[5]. Além disso, a lesão pulmonar aguda contribui para a maior incidência de bronquiolite obliterante, principal causa de rejeição tardia do enxerto pulmonar[6].

A disfunção primária do enxerto é um tipo de dano agudo ao órgão doador resultante dos eventos próprios do transplante como morte encefálica do doador, período de isquemia, preservação e reperfusão. Sua incidência é de 11-25%[4, 5, 38-40].

Vários termos são utilizados para descrever essa condição: lesão de isquemia e reperfusão, resposta pós-implante, edema pós-implante, edema de reperfusão, edema pulmonar não cardiogênico, disfunção precoce do enxerto, disfunção primária do enxerto, falência primária do enxerto, síndrome da angústia respiratória aguda pós-transplante e dano pulmonar agudo. Esses termos não são sinônimos, sendo alguns utilizados em eventos terminais de lesão de isquemia-reperfusão, e outros para quadros menos graves[41]. Mesmo assim, há consenso que a disfunção primária do enxerto acarreta grande morbimortalidade no transplante pulmonar.

Fatores do doador como idade, raça, doença pulmonar prévia e tabagismo podem influenciar na qualidade do enxerto. Outros fatores como morte encefálica do doador, aspiração brônquica, período longo em ventilação mecânica, instabilidade hemodinâmica, trauma, pneumonia e transfusões sanguíneas contribuem para o surgimento do dano pulmonar oriundo da isquemia-reperfusão, e para a disfunção do enxerto[42, 43].

Os parâmetros gasométricos utilizados para caracterizar um pulmão doador como adequado são: $\text{PaO}_2 > 300\text{mmHg}$ com FiO_2 de 100% e PEEP de $5\text{cmH}_2\text{O}$ ou $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \geq 300\text{mmHg}$. No caso de acidose, deve-se corrigir com bicarbonato de sódio ou aumento da ventilação. Há evidências da utilização de doadores com valores mais alterados, desde que sem outros fatores de risco. O manejo hídrico deve ser feito com muita cautela, pois se por um lado a hipovolemia, frequentemente observada, deva ser tratada agressivamente, por outro a sobrecarga hídrica pode levar ao edema pulmonar, inviabilizando o órgão[44].

2.2 Morte Encefálica

2.2.1 Definição e Diagnóstico de Morte Encefálica

Antigamente a definição de morte estava atrelada meramente à parada dos batimentos cardíacos e da respiração. Esta definição remetia ao coração como órgão central do corpo humano, e nestas condições o cérebro se tornaria inviável. Com os avanços nas técnicas de reanimação cardio-pulmonar e da medicina intensiva, houve a necessidade de um novo conceito para morte.

A primeira publicação com a definição de morte encefálica data de 1968, onde foi proposto o termo coma irreversível[45]. Naquela época, os critérios de morte levavam a controvérsias importantes na hora de obter órgãos doadores. O critério de coma irreversível poderia ser uma nova definição de morte, alterando as bases dos programas de transplante. Os critérios para definição de coma irreversível eram: não-responsividade e não-receptividade a estímulos; ausência de movimentos, incluindo movimentos respiratórios; ausência de reflexos de tronco encefálico; e eletroencefalograma isométrico. Todos os exames deveriam ser repetidos após 24

horas, e fatores de confusão como hipotermia e uso de depressores do sistema nervoso central deveriam ser descartados. No entanto, o exame por mais de um médico não era mencionado.

Esses critérios ainda são considerados confiáveis na comunidade científica, estando presentes nas duas Resoluções sobre morte encefálica do Conselho Federal de Medicina Brasileiro (CFM) publicadas até hoje, a de 1991[46], e a de 1997[47], que revogou a anterior.

Atualmente, a definição de morte encefálica é a condição clínica onde um exame neurológico atesta ausência de todos os reflexos do tronco cerebral e de qualquer resposta ventilatória com uma hipercapnia maior que PaCO_2 de 60mmHg, temperatura corpórea normal, exames bioquímicos e toxicológicos normais, e ausência de fluxo sanguíneo cerebral em exames de imagem[48].

Em 1997 foi publicada no Brasil a Resolução do CFM que trata do diagnóstico de morte encefálica (Quadro 1). Faz parte dessa Resolução o Termo de Declaração de Morte Encefálica, que visa orientar e padronizar o manejo de pacientes com suspeita de morte encefálica em hospitais brasileiros (Quadro 2)[47]. Segundo a Resolução, a definição de morte encefálica é a parada total e irreversível da atividade do tronco e hemisférios cerebrais.

Quadro 1. Resolução do Conselho Federal de Medicina Brasileiro referente ao diagnóstico de morte encefálica.

RESOLUÇÃO CFM nº 1.480/97

O Conselho Federal de Medicina, no uso das atribuições conferidas pela Lei nº 3.268, de 30 de setembro de 1957, regulamentada pelo Decreto nº 44.045, de 19 de julho de 1958 e, CONSIDERANDO que a Lei nº 9.434, de 4 de fevereiro de 1997, que dispõe sobre a retirada de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento, determina em seu artigo 3º que compete ao Conselho Federal de Medicina definir os critérios para diagnóstico de morte encefálica; CONSIDERANDO que a parada total e irreversível das funções encefálicas equivale à morte, conforme critérios já bem estabelecidos pela comunidade científica mundial; CONSIDERANDO o ônus psicológico e material causado pelo prolongamento do uso de recursos extraordinários para o suporte de funções vegetativas em pacientes com parada total e irreversível da atividade encefálica; CONSIDERANDO a necessidade de judiciosa indicação para interrupção do emprego desses recursos; CONSIDERANDO a necessidade da adoção de critérios para constatar, de modo indiscutível, a ocorrência de morte; CONSIDERANDO que ainda não há consenso sobre a aplicabilidade desses critérios em crianças menores de 7 dias e prematuros,

RESOLVE:

Art. 1º. A morte encefálica será caracterizada através da realização de exames clínicos e complementares durante intervalos de tempo variáveis, próprios para determinadas faixas etárias.

Art. 2º. Os dados clínicos e complementares observados quando da caracterização da morte encefálica deverão ser registrados no "termo de declaração de morte encefálica" anexo a esta Resolução.

Parágrafo único. As instituições hospitalares poderão fazer acréscimos ao presente termo, que deverão ser aprovados pelos Conselhos Regionais de Medicina da sua jurisdição, sendo vedada a supressão de qualquer de seus itens.

Art. 3º. A morte encefálica deverá ser consequência de processo irreversível e de causa conhecida.

Art. 4º. Os parâmetros clínicos a serem observados para constatação de morte encefálica são: coma aperceptivo com ausência de atividade motora supra-espinal e apnéia.

Art. 5º. Os intervalos mínimos entre as duas avaliações clínicas necessárias para a caracterização da morte encefálica serão definidos por faixa etária, conforme abaixo especificado:

- a) de 7 dias a 2 meses incompletos - 48 horas
- b) de 2 meses a 1 ano incompleto - 24 horas
- c) de 1 ano a 2 anos incompletos - 12 horas
- d) acima de 2 anos - 6 horas

Art. 6º. Os exames complementares a serem observados para constatação de morte encefálica deverão demonstrar de forma inequívoca:

- a) ausência de atividade elétrica cerebral ou,
- b) ausência de atividade metabólica cerebral ou,
- c) ausência de perfusão sangüínea cerebral.

Art. 7º. Os exames complementares serão utilizados por faixa etária, conforme abaixo especificado:

- a) acima de 2 anos - um dos exames citados no Art. 6º, alíneas "a", "b" e "c";
- b) de 1 a 2 anos incompletos: um dos exames citados no Art. 6º, alíneas "a", "b" e "c". Quando optar-se por eletroencefalograma, serão necessários 2 exames com intervalo de 12 horas entre um e outro;
- c) de 2 meses a 1 ano incompleto - 2 eletroencefalogramas com intervalo de 24 horas entre um e outro;
- d) de 7 dias a 2 meses incompletos - 2 eletroencefalogramas com intervalo de 48 horas entre um e outro.

Art. 8º. O Termo de Declaração de Morte Encefálica, devidamente preenchido e assinado, e os exames complementares utilizados para diagnóstico da morte encefálica deverão ser arquivados no próprio prontuário do paciente.

Art. 9º. Constatada e documentada a morte encefálica, deverá o Diretor-Clínico da instituição hospitalar, ou quem for delegado, comunicar tal fato aos responsáveis legais do paciente, se houver, e à Central de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos a que estiver vinculada a unidade hospitalar onde o mesmo se encontrava internado.

Quadro 2. Termo de Declaração de Morte Encefálica

IDENTIFICAÇÃO DO HOSPITAL

TERMO DE DECLARAÇÃO DE MORTE ENCEFÁLICA

(Res. CFM nº 1.480 de 08/08/97)

NOME: _____

PAI: _____

MÃE: _____

IDADE: _____ ANOS _____ MESES _____ DIAS DATA DE NASCIMENTO ____/____/____

SEXO: M F RAÇA: A B N Registro Hospitalar: _____

A. CAUSA DO COMA

A.1 - Causa do Coma:

A.2. Causas do coma que devem ser excluídas durante o exame

a) Hipotermia () SIM () NÃO

b) Uso de drogas depressoras do sistema nervoso central () SIM () NÃO

Se a resposta for sim a qualquer um dos itens, interrompe-se o protocolo

B. EXAME NEUROLÓGICO - Atenção: verificar o intervalo mínimo exigível entre as avaliações clínicas, constantes da tabela abaixo:

IDADE INTERVALO

7 dias a 2 meses incompletos 48 horas

2 meses a 1 ano incompleto 24 horas

1 ano a 2 anos incompletos 12 horas

Acima de 2 anos 6 horas

(Ao efetuar o exame, assinalar uma das duas opções SIM/NÃO. obrigatoriamente, para todos os itens abaixo)

Elementos do exame neurológico Resultados

1º exame 2º exame

Coma aperceptivo ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

Pupilas fixas e arreativas ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

Ausência de reflexo córneo-palpebral ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

Ausência de reflexos oculocefálicos ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

Ausência de respostas às provas calóricas ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

Ausência de reflexo de tosse ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

Apnéia ()SIM ()NÃO ()SIM ()NÃO

C. ASSINATURAS DOS EXAMES CLÍNICOS - (Os exames devem ser realizados por profissionais diferentes, que não poderão ser integrantes da equipe de remoção e transplante.

1 - PRIMEIRO EXAME 2 - SEGUNDO EXAME

DATA: ___/___/___ HORA: ___:___ DATA: ___/___/___ HORA: ___:___

NOME DO MÉDICO: _____ NOME DO MÉDICO: _____

CRM: _____ FONE: _____ CRM: _____ FONE: _____

END.: _____ END.: _____

ASSINATURA: _____ ASSINATURA: _____

D. EXAME COMPLEMENTAR - Indicar o exame realizado e anexar laudo com identificação do médico responsável.

1. Angiografia Cerebral 2. Cintilografia Radioisotópica 3. Doppler Transcraniano 4. Monitorização da pressão intra-craniana 5. Tomografia computadorizada com xenônio
6. Tomografia por emissão de foton único 7. EEG 8. Tomografia por emissão de positrões 9. Extração Cerebral de oxigênio 10. outros (citar)

E. OBSERVAÇÕES

1 - Interessa, para o diagnóstico de morte encefálica, exclusivamente a arreatividade supraespinal.

Consequentemente, não afasta este diagnóstico a presença de sinais de reatividade infraespinal (atividade reflexa medular) tais como: reflexos osteotendinosos ("reflexos profundos"), cutâneo-abdominais, cutâneo-plantar em flexão ou extensão, cremastérico superficial ou profundo, ereção peniana reflexa, arrepio, reflexos flexores de retirada dos membros inferiores ou superiores, reflexo tônico cervical.

2 - Prova calórica

2.1 - Certificar-se de que não há obstrução do canal auditivo por cerumem ou qualquer outra condição que dificulte ou impeça a correta realização do exame.

2.2 - Usar 50 ml de líquido (soro fisiológico, água, etc) próximo de 0 grau Celsius em cada ouvido.

2.3 - Manter a cabeça elevada em 30 (trinta) graus durante a prova.

2.4 - Constatar a ausência de movimentos oculares.

3 - Teste da apnéia

No doente em coma, o nível sensorial de estímulo para desencadear a respiração é alto, necessitando-se da pCO₂ de até 55 mmHg, fenômeno que pode determinar um tempo de vários minutos entre a desconexão do respirador e o aparecimento dos movimentos respiratórios, caso a região ponto-bulbar ainda esteja íntegra. A prova da apnéia é realizada de acordo com o seguinte protocolo:

3.1 - Ventilar o paciente com O₂ de 100% por 10 minutos.

3.2 - Desconectar o ventilador.

3.3 - Instalar catéter traqueal de oxigênio com fluxo de 6 litros por minuto.

3.4 - Observar se aparecem movimentos respiratórios por 10 minutos ou até quando o pCO₂ atingir 55mmHg.

4 - Exame complementar. Este exame clínico deve estar acompanhado de um exame complementar que demonstre inequivocadamente a ausência de circulação sanguínea intracraniana ou atividade elétrica cerebral, ou atividade metabólica cerebral. Observar o disposto abaixo (itens 5 e 6) com relação ao tipo de exame e faixa etária.

5 - Em pacientes com dois anos ou mais - 1 exame complementar entre os abaixo mencionados:

5.1 - Atividade circulatória cerebral: angiografia, cintilografia radioisotópica, doppler transcraniano, monitorização da pressão intracraniana, tomografia computadorizada com xenônio, SPECT.

5.2 - Atividade elétrica: eletroencefalograma.

5.3 - Atividade metabólica: PET, extração cerebral de oxigênio.

6 - Para pacientes abaixo de 02 anos:

6.1 - De 1 ano a 2 anos incompletos: o tipo de exame é facultativo. No caso de eletroencefalograma são necessários 2 registros com intervalo mínimo de 12 horas.

6.2 - De 2 meses a 1 ano incompleto: dois eletroencefalogramas com intervalo de 24 horas.

6.3 - De 7 dias a 2 meses de idade (incompletos): dois eletroencefalogramas com intervalo de 48h.

7 - Uma vez constatada a morte encefálica, cópia deste termo de declaração deve obrigatoriamente ser enviada ao órgão controlador estadual (Lei 9.434/97, Art. 13).

Apesar dos critérios atualmente utilizados para o diagnóstico de morte encefálica serem abrangentes e rígidos, não são isentos de críticas[49, 50].

Segundo Shewmon, os atuais critérios clínicos para diagnóstico de morte encefálica não permitem excluir falsos positivos. Afirma que aceitando um risco máximo de falso positivo de 0,01%, seria necessário o acompanhamento da evolução de 23.025 pacientes que preenchessem os atuais critérios diagnósticos e concluir que nenhum deles apresentasse um diagnóstico falso positivo[51].

O teste de apneia é criticado por ser potencialmente prejudicial em pacientes com baixa perfusão cerebral, pela possibilidade de ocasionar hipotensão e aumento da pressão intracraniana[52]. Além disso, seus resultados não são confiáveis em pacientes com dano pulmonar (hipoxemia) e acidose[53].

Estudo prospectivo mostrou que hipertermia eleva o risco de morte em paciente com acidente vascular cerebral[54]. Já a utilização de hipotermia moderada seria benéfica em pacientes com traumatismo crânio-encefálico grave[55-57]. Segundo Coimbra, esses estudos sugerem que o diagnóstico atual de morte encefálica não seria totalmente confiável, e que pacientes considerados potenciais doadores deveriam ser submetidos à hipotermia moderada como alternativa ao teste de apneia[50].

2.2.2 Doação de órgãos e recomendações da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO)

Órgãos para transplantes podem ser captados de doadores vivos, cadavéricos ou em morte encefálica. A doação de pulmão é um exemplo de captação de doadores vivos e em morte encefálica[58, 59]. A grande maioria dos órgãos são de doadores em morte encefálica.

No Brasil, há 8 centros de transplantes habilitados segundo a ABTO, sendo 5 desses centros em São Paulo e no Rio Grande do Sul[60].

A página eletrônica da ABTO lista orientações básicas na manutenção do doador cadáver:

- a) Garantia de acessos vasculares;
- b) Tratamento de hipotensão com reposição vigorosa (cristaloides e colóides) e uso de dopamina ou outra droga vasoativa;
- c) Ventilação mecânica com volume inspiratório de 10ml/Kg de peso, pressão positiva expiratória (PEEP) de 5cmH₂O e gasometria arterial periódica;
- d) Controle de hipotermia com focos de luz próximos ao tórax e abdômen, infusão e ventilação aquecidos e cobertor térmico;
- e) Outros cuidados: reposição de eletrólitos, reposição de bicarbonato de sódio em acidose metabólica, correção de hiperglicemia com insulina regular, uso regular de antibióticos profiláticos e terapêuticos, transfusão de sangue quando hemoglobina abaixo de 10g/dl, e proteção ocular com gaze umedecida.

Não são mencionados cuidados com relação à ressuscitação hormonal com administração de corticóides ou hormônios tireóideos.

2.2.3 Fisiopatologia da morte encefálica

As principais causa de morte encefálica em potenciais doadores no nosso meio são acidente vascular cerebral (40,5%), traumatismo crânio-encefálico (34,2%), hemorragia subaracnóidea (10,9%), e ferimento por arma de fogo (5,7%)[61].

As chances de sucesso de transplante de doadores vivos são maiores do que de doadores mortos[11, 62]. No entanto, a maioria dos doadores estão em morte encefálica, estando associado a pior qualidade do enxerto[42] e maior risco de rejeição crônica[24] e aguda[63].

O mecanismo desencadeante da morte encefálica também possui influencia na rejeição crônica do enxerto. Estudo retrospectivo demonstrou que transplantes de pulmões doadores em morte encefálica traumática apresentaram associação com bronquiolite obliterante[64].

Van Der Hoeven observou em modelo experimental que a morte encefálica promove deterioração progressiva da função hepática e que a instabilidade hemodinâmica é um fator agravante dessa deterioração. Este estudo concluiu que a morte encefálica não deve ser considerada uma condição estática, e sim um processo dinâmico que influencia diretamente a viabilidade dos órgãos doadores. Logo, intervenções aplicadas durante o tempo entre a constatação da morte encefálica e a retirada dos órgãos poderiam diminuir os efeitos negativos da morte encefálica[65].

Outro estudo utilizando modelo animal observou que o dano pulmonar decorrente da IR em doadores em parada cardio-respiratória é menor do que em doadores em morte encefálica[66].

Os mecanismos pelos quais a morte encefálica agride o órgão doador ainda não são totalmente esclarecidos. A compreensão destes mecanismos e o desenvolvimento de técnicas e intervenções que possam inibir essa agressão podem aumentar o número de doadores viáveis e diminuir a incidência de falência primária do enxerto[67].

2.2.4 Alterações hemodinâmicas

A morte encefálica é decorrente de um dano irreversível ao tronco cerebral. Em modelos animais, esse dano é seguido de uma ativação do sistema nervoso autônomo (*autonomic storm*), com aumento dos níveis plasmáticos de adrenalina e noradrenalina[14]. Conseqüentemente, são observados taquicardia, arritmias, alterações eletrolíticas, flutuação caótica da pressão arterial, alterações pulmonares, hipotermia e coagulopatia. Um evento importante nesse processo é o surgimento do edema pulmonar neurogênico[68].

O mecanismo envolvido na gênese do EPN foi observado após modificações introduzidas na *Blast Injury Theory*. Estudo experimental de indução de morte encefálica por aumento da pressão intracraniana em animais com manutenção de níveis pressóricos sistêmicos através da exsanguinação controlada da aorta observou edema pulmonar com frequência similar aos animais hipertensos[69]. Outro estudo que controlou as pressões da aorta, da artéria pulmonar e do átrio esquerdo concluiu que o controle da pressão da artéria pulmonar preveniu o surgimento de EPN[70]. Igualmente, o EPN e a resposta hemodinâmica à lesão cerebral podem ser prevenidos pelo bloqueio alfa-adrenérgico, transecção espinhal, esplancnicectomia e anestesia espinhal, mas não por adrenalectomia ou bloqueio beta-adrenérgico. Estes achados indicam que a noradrenalina é um mediador da resposta simpática à lesão cerebral[71, 72].

As alterações se iniciam com compressão e estimulação do tronco encefálico e herniação das estruturas cranianas. Conseqüentemente, ocorre elevação da pressão intracraniana e diminuição da perfusão cerebral com aumento da isquemia. A diminuição do pH e o aumento da PCO_2 resultantes sensibilizam os quimiorreceptores do hipotálamo, ativando o sistema simpático. A chamada "tempestade simpática" ativa receptores α -1-adrenérgicos determinado vasoconstrição, aumento da resistência

periférica e aumento da pressão arterial para melhorar a perfusão cerebral. No entanto, o aumento da pressão arterial sensibiliza os barorreceptores carotídeos e ocasiona uma estimulação parassimpática induzindo uma bradicardia transitória[73-75].

Hipertensão, padrão ventilatório irregular e bradicardia em resposta ao aumento da pressão intracraniana definem o Reflexo de Cushing, descrito pelo mesmo em 1902 [76].

As consequências da tempestade simpática na resistência vascular periférica e nos parâmetros cardio-respiratórios estão diretamente relacionados com a elevação da pressão intracraniana. Mesmo com a hipertensão os tecidos se tornam isquêmicos devido à vasoconstrição periférica, ao aumento da resistência vascular e à diminuição do fluxo sanguíneo tecidual.

No miocárdio essas alterações levam à súbita elevação do trabalho cardíaco e do consumo de oxigênio. A demanda do coração não é suprida, e advém isquemia cardíaca global. Essa fase dura poucos minutos[34].

Logo após a fase hipertensiva, observa-se uma hipotensão sustentada (platô hipotensivo)[69]. Em virtude da diminuição dos níveis de catecolaminas, ocorre uma diminuição da resistência vascular periférica e da contratibilidade cardíaca. Com isso pioram a pressão perfusional e a auto-regulação vascular, com menor perfusão e oferta tecidual de oxigênio[2].

2.2.5 Alterações endócrinas

As alterações endócrinas decorrentes da morte se devem à tempestade autonômica e à disfunção do eixo hipotálamo-hipófise. Logo, há o surgimento de

diabetes insípido e diminuição dos níveis de tiroxina, triiodotironina, vasopressina, cortisol, insulina e hormônio adrenocorticotrópico[73]. Bittner et al observaram em modelo experimental que os níveis de vasopressina diminuem após 15 minutos, e os do hormônio adrenocorticotrópico após 45 minutos do estabelecimento da morte encefálica[77].

A função endócrina cardíaca parece não se alterar significativamente com a morte encefálica. Os peptídeos natriuréticos B e atrial estão associados com a gravidade do dano miocárdico. Em estudo com modelo porcino, os níveis de hormônio natriurético atrial se elevaram apesar do comprometimento da contratilidade[15]. Outro estudo observou que os níveis de peptídeo natriurético atrial e peptídeo tipo B não se alteraram em relação ao grupo controle[68].

Em estudo experimental, infusão contínua de insulina ocasionou menor liberação de TNF- α , IL-6 e IL-10 no ventrículo direito, córtex e medula adrenal[78].

Outro estudo experimental observou que a administração de triiodotironina altera o metabolismo anaeróbico na morte encefálica, com a diminuição da produção de lactato e ácidos graxos[79-83].

No entanto, outros autores observaram achados diferentes com relação aos achados hormonais na morte encefálica. Gramm não identificou diminuição dos níveis hormonais hipotalâmico-hipofisário e tireóideos em potenciais doadores com morte encefálica. Seus resultados foram interpretados como se houvesse uma função residual do sistema neuroendócrino capaz de manter os níveis hormonais na morte encefálica[80, 84]. Achados similares foram relatados por Arita et al[81, 85].

2.2.6 Alterações morfológicas

As alterações oriundas da tempestade autonômica e da liberação de catecolaminas nas fibras simpáticas miocárdicas podem ocasionar aumento da resposta imunológica do receptor, com uma pior patência do enxerto. Hemorragia petequisal, lise de coagulação dos miócitos e infiltração mononuclear são observados no subendocárdio do ventrículo esquerdo[82], podendo evoluir para necrose miocárdica[83]. Em modelos experimentais de morte encefálica induzida pelo aumento gradual da pressão intracraniana, não se observaram alterações hemodinâmicas significativas, ocorrendo discretas alterações morfológicas miocárdicas. Assim, a grande liberação de catecolaminas é um dos fatores que influenciam na qualidade dos potenciais órgãos após morte encefálica[84, 85].

No transplante renal, a tempestade autonômica também favorece a disfunção do enxerto. Alterações como hiperemia glomerular, glomerulite, proliferação endotelial e periglomerulite são encontradas após a morte encefálica, sendo que após 3 dias podem ser encontradas degeneração, atrofia e necrose das células tubulares[86]. Esses achados são decorrentes da hipotensão e da vasoconstrição renal observados após a morte encefálica. Órgãos retirados de doadores com instabilidade hemodinâmica apresentam alta incidência de necrose tubular aguda[87]. Instabilidade hemodinâmica e tempo de exposição do rim à morte encefálica se relacionam diretamente com disfunção do enxerto[88].

Para o transplante hepático, a literatura ainda é controversa. Modelo canino de hipotensão prolongada e morte encefálica observou que o fígado é muito resistente à hipotensão, possuindo grande reserva fisiológica[89]. Já outro estudo sobre viabilidade hepática observou menor perfusão de sinusóides, maior aderência leucocitária nas vênulas pós-sinusóide, e maior deterioração da função hepática em animais submetidos à morte encefálica[90]. Estudos clínicos observaram que 4 dias após a

morte encefálica há congestão venosa central extensa e que 15 dias após pode ocorrer necrose periportal, além da alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular associada à infiltração leucocitária[87, 91, 92].

O pulmão é um órgão extremamente suscetível às alterações hemodinâmicas decorrentes da tempestade autonômica. Com o aumento da resistência vascular periférica, ocorre aumento da reserva capilar pulmonar e do fluxo sanguíneo na artéria pulmonar. Essas alterações deterioram a função pulmonar, comprometendo seu aproveitamento para transplante[93]. Há marcada infiltração neutrofílica no parênquima pulmonar e alta concentração de IL-8 no lavado broncoalveolar[9].

Estudo experimental murino de morte encefálica seguido de transplante pulmonar revelou que após 100 dias de seguimento a microscopia ótica revelava infiltração leucocitária intersticial, peribronquiolar e perivascular, indicando rejeição crônica[24]. Outro estudo com modelo de morte encefálica revelou na microscopia eletrônica ruptura total da membrana alvéolo-capilar em todos os animais[2].

Com relação ao pâncreas, apesar de altos níveis de insulina e peptídeo C serem observados, sua função altera-se pouco na morte encefálica. Modelo animal de transplante de ilhotas pancreáticas demonstrou que morte encefálica propicia infiltração macrofágica e liberação de citocinas[94].

2.2.7 Alterações metabólicas

Os eventos hemodinâmicos e endócrinos provocados pela morte encefálica determinam a alteração do metabolismo aeróbico para o anaeróbico, com surgimento de acidose láctica. A administração de triiodotironina em modelo animal reduziu a produção de lactato, indicando potencial reversão desse metabolismo[15, 79].

A liberação de lipases, proteases e endonucleases com consequente liberação de espécies reativas de oxigênio promovem diversas lesões celulares, com alterações na membrana celular[95, 96]. O uso do antioxidante selênio em outro modelo animal murino reduziu a liberação dessas espécies reativas com diminuição da apoptose celular[97].

2.2.8 Alterações inflamatórias, imunológicas e genéticas

O pulmão é o órgão mais suscetível a alterações inflamatórias. Com as alterações decorrentes da morte encefálica, há uma ativação imune com liberação de citocinas inflamatórias e infiltração tecidual de leucócitos[98, 99].

A síndrome da resposta inflamatória envolvida na lesão pulmonar associada à morte encefálica ainda não é totalmente compreendida. A morte encefálica ocasiona a elevação de IL-1, IL-2, IL-3 e (TNF- α) em órgãos periféricos. No pulmão, a IL-1 e o TNF- α são citocinas de resposta rápida produzidas pelos macrófagos alveolares durante a lesão aguda e ativados pelo fator de necrose kappa-Beta (NF- $\kappa\beta$). Essas citocinas ativam células endoteliais que produzem moléculas de adesão (molécula 1, seletina E e seletina P). Elas também mediam a produção de IL-8, potente ativador neutrofílico e quimiotático que leva à lesão pulmonar aguda através da liberação de enzimas proteolíticas intersticiais e alveolares[100, 101]. Níveis elevados de IL-8 foram observados no LBA de pacientes de risco para desenvolvimento de síndrome da angústia respiratória do adulto (SARA)[2].

Fischer et al observaram que o lavado broncoalveolar de pacientes em morte encefálica apresentavam alta concentração de neutrófilos, IL-8 e genes relacionados ao crescimento α (GRO- α), estando relacionado com maior infiltração neutrofílica[9]. Aliado aos resultados de outro estudo[102], concluíram que o grau de infiltração

neutrofílica no pulmão é maior que o de pacientes em ventilação mecânica sem morte encefálica.

Moléculas de adesão também se encontram elevadas em pacientes em morte encefálica[94]. A selectina-P, molécula com alta expressão pós morte encefálica, é aparentemente responsável pelos eventos subsequentes. Os leucócitos aderidos expressam outras moléculas, como molécula de adesão intercelular (ICAM) e proteína de adesão celular vascular (VCAM), além de citocinas como TNF- α , interferon- γ e IL-6[98]. Estudo demonstrou que TNF- α elevado no miocárdio de doador pode ser considerado um fator preditivo para disfunção ventricular direita no receptor com especificidade de 83,3% e sensibilidade de 87,5%[103].

A expressão de moléculas com complexo maior de histocompatibilidade I e II (MHC) está aumentada devido o aumento de interferon gama (INF- γ). Embora esta elevação não interfira diretamente no processo de rejeição, há um aumento da imunogenicidade via processo de reconhecimento leucocitário. O aumento da expressão de antígenos oriundos da lesão endotelial inespecífica pode aumentar as chances de rejeição aguda[72].

Barklin et al, por sua vez, não observaram alteração nos níveis de interleucinas no tecido renal, hepático e cardíaco após 360 minutos de morte encefálica em estudo com grupo controle[104].

O TNF- α é o principal mediador na inflamação pós morte encefálica. Além de participar no processo inflamatório, é responsável pela ativação do processo apoptótico. Modelo murino de morte encefálica observou que hepatócitos dos ratos tiveram maior indução de apoptose mesmo com alta expressão anti-apoptótica de NF κ B[105]. Outro estudo demonstrou que a inalação de monóxido de carbono diminuiu a expressão de TNF- α e IL-6, moléculas de adesão e vias pró-apoptóticas,

melhorando a relação PaO_2/FiO_2 , o excesso de base e a acidose decorrentes da morte encefálica[106].

Estudos clínicos apontam para um maior índice de apoptose em órgãos doados de pacientes pós morte encefálica. Estudo realizado em 85 pacientes em morte encefálica concluiu que a rápida deterioração de seus órgãos era explicada pela expressão de caspase 9, uma molécula pró-apoptótica[93].

Receptores *toll-like* (TLR) são moléculas do sistema imune inato que reconhecem moléculas associadas a microorganismos patogênicos como lipolissacarídeos, lipopeptídeos e ácidos nucleicos[107, 108]. Há evidências que mesmo na ausência de infecção, células lesadas podem ativar esses TLRs[109]. Uma vez ativados, eles determinam o recrutamento de moléculas de adaptação: proteína de resposta primária de diferenciação mielóide (MyD88) e adaptador de indução de interferon- β (TRIF). Essa interação implica na ativação da via dependente da MyD88, resultando na ativação de fatores de transcrição como a proteína ativadora 1(AP1) e o fator nuclear kappa beta (NF κ B) e a síntese de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-6, IFN- γ)[110]. Os TLRs 2 e 4 são expressos nos leucócitos e pneumócitos permitindo-as que respondam a tais moléculas, como demonstrado em estudos experimentais de lesão de IR[111, 112].

Rostron et al estudaram se a ativação do sistema *toll-like* poderia influenciar nos mecanismos da lesão devido à morte encefálica. Após dessensibilizar os TLRs com agonistas de TLR4 (lipopolissacarídeos (LPS) derivados da *Escherichia coli*) e TLR2/6 (lipoproteína sintética de *Mycoplasma*) e induzir morte encefálica por insuflação de cateter com balão, observaram que houve prevenção da hipotensão neurogênica e a da acidose metabólica, bem como redução dos níveis das citocinas CXCL1 e TNF- α no lavado broncoalveolar. A dessensibilização também reduziu a expressão da molécula de adesão integrina CD 11b nos neutrófilos. No pulmão, a

inibição de TLR4 inibiu a expressão de citocinas IFN- γ , IFN- β e CXCL10, enquanto que a dessensibilização dos TLR 2/6 reduziu apenas a expressão de IFN- γ [113].

Análise de perfil de expressão gênica em pulmões de doadores em morte encefálica e doadores somente em parada cardio-respiratória demonstrou uma maior ativação das vias inflamatórias no grupo em morte encefálica[114]. Outro estudo envolvendo pacientes em morte encefálica e voluntários não identificou maior expressão de genes relacionados à inflamação no tecido muscular esquelético, mas sim uma maior ativação de genes pró-apoptose[115].

2.2.9 Morte encefálica e ressuscitação hormonal em estudos experimentais

Wigfield et al foram os primeiros a observar que o uso de corticóides poderia regular o dano causado pela morte encefálica. Seu estudo (modelo murino) observou diminuição da resistência vascular pulmonar, da celularidade e da expressão de polimorfonucleares CD 11b e 18 no lavado broncoalveolar com a administração de metilprednisolona, além de melhorar a troca gasosa no enxerto[28].

A metilprednisolona também foi estudada em modelo porcino de morte encefálica, onde foi observado que inibe a cascata inflamatória induzida pela mesma, melhorando a função ventricular sistólica e diastólica[116, 117].

A eritropoietina, citocina anti-apoptótica, anti-inflamatória e neurotrófica, mostrou-se protetora do epitélio respiratório em modelo animal de trauma cerebral[118, 119]. Em outro estudo, também se mostrou eficaz na diminuição da expressão de genes inflamatórios e da infiltração de polimorfonucleares em rins de ratos submetidos à morte encefálica[120].

2.3 Edema pulmonar neurogênico

2.3.1 Definição

É uma complicação decorrente de um dano neurológico central. Inicialmente observado após dano neurológico ocasionado por convulsões no início do século passado[93]. Pacientes com doença cardio-pulmonar estão mais propensos a desenvolvê-lo e está associado com elevação da pressão intracraniana e mortalidade de 60-100%[121].

2.3.2 Epidemiologia

Qualquer dano cerebral pode resultar em edema pulmonar neurogênico. As principais causas são: hemorragia sub-aracnóidea, trauma crânio-encefálico, lesão cervical, trombose cerebral, embolia gasosa cerebral, hemorragia intra-cerebral, tumor cerebral, status epiléptico, cirurgia craniana, infecções do SNC, e esclerose múltipla. [122, 123].

Ocorre em cerca de 1% das vítimas de trauma crânio encefálico, 71% após hemorragia cerebral, e cerca de 2% das vítimas de convulsão[121].

Hemorragia sub-aracnóidea é considerada uma das principais causas de edema pulmonar neurogênico, podendo ocorrer em até 23%, sendo 6% na forma grave. Devido à hipóxia, a mortalidade associada é de 10%, e cerca de 90% dos óbitos por eventos agudos cursam com edema[124]. Ocorre normalmente entre o primeiro e o sétimo dias do evento. Os principais fatores de risco para o desenvolvimento do edema estão relacionados com a gravidade clínica e radiológica da hemorragia, existindo correlação positiva entre a idade do paciente, demora na intervenção cirúrgica e sobrecarga hídrica[125].

Há também associação com a gravidade do trauma craniano, onde cerca de 20% dos pacientes com Glasgow menor que 8 desenvolvem edema[126]. A incidência de edema em vítimas fatais de traumatismo craniano isolado é de 32%[127].

As alterações pulmonares decorrentes do aumento da pressão intracraniana são importantes na questão dos potenciais doadores de órgãos. Edema pulmonar e infecção pulmonar são as principais causas para perda desses órgãos, explicando a utilização de somente 20% dos pulmões de potenciais pacientes doadores de outros órgãos[128].

Há estimativas de que ocorra em cerca de um terço dos pacientes com epilepsia em estado pós-ictal[129]. Outras estimativas vão mais além, afirmando ser esta a causa mais frequente de edema pulmonar neurogênico[130].

2.3.3 Modelos experimentais

Cameron e De foram os pioneiros na utilização de modelos experimentais para estudar o edema pulmonar neurogênico e possíveis formas de tratamento[19]. Esses modelos podem ser específicos, quando estimuladas ou danificadas determinadas áreas do cérebro, ou inespecíficos, quando se provoca uma lesão extensa ou total do parênquima cerebral[131, 132].

O dano maciço pode ser provocado através da injeção intra-tecal de uma substância irritativa. As principais substâncias são trombina, fibrinogênio, veratrina (neurotoxina herbácea ativadora de canais de sódio), albumina, sangue autólogo, acotinina (neurotoxina utilizada em modelos de arritmia cardíaca)[21, 25, 124]. A injeção de albumina ou sangue autólogo em modelo de hemorragia sub-aracnóidea demonstrou não haver relação entre o aumento da permeabilidade capilar e a

velocidade da infusão[124]. Também há modelos de indução de convulsões por administração de bicuculina, um antagonista do receptor GABA_A[133]. Modelos de trauma cerebral contuso ou concussão cerebral também foram estabelecidos[134, 135]. Outro modelo utilizado é o de insuflação intra-craniana de cateter com balão.

Modelo de lesão sub-maciosa pouco utilizado é através do aumento gradual da pressão intra-craniana por infusão controlada de líquido céfalo-raquidiano diretamente na cisterna magna[136].

Mais recentemente, modelos de trauma medular por insuflação de cateter no espaço epidural da coluna torácica de ratos foram estabelecidos para o estudo do edema pulmonar neurogênico associado ao trauma raquimedular[137, 138].

Através desses modelos foi possível estabelecer o mecanismo hemodinâmico e o inflamatório como mecanismos responsáveis pelo edema pulmonar neurogênico.

2.3.4 Fisiopatologia

Não está totalmente esclarecida e muito ainda se discute. Acredita-se que se deva a um aumento da pressão hidrostática ocasionada pela liberação excessiva de catecolaminas ou mesmo pelo aumento da permeabilidade capilar ocasionada pelas mesmas[139]. As duas situações podem também se somar.

Anatomicamente, as áreas cerebrais gatilho para o desencadeamento do edema pulmonar neurogênico são o hipotálamo e o bulbo. No bulbo, existem duas áreas mais implicadas: uma ventral (grupo de neurônios catecolaminérgicos A1) e outra dorsal (núcleo reticulatório medial, núcleo motor dorsal do vago, e núcleo do trato solitário). No hipotálamo, a região posterior é grande responsável pela ativação simpática por isquemia e hemorragia[140].

2.3.5 Mecanismo hemodinâmico

O edema se inicia com a vasoconstrição pulmonar decorrente das catecolaminas liberadas após a lesão cerebral. Com o aumento da pressão hidrostática, segue-se aumento da permeabilidade capilar que se perpetua mesmo após o esgotamento das reserva adrenérgicas, indicando que de alguma forma há outros mediadores responsáveis, possivelmente inflamatórios[141].

A teoria da lesão por explosão proposta por Theodore e Robin em 1975 explica o mecanismo hemodinâmico do edema pulmonar neurogênico. Nessa teoria, o sangue seria direcionado de um sistema de alta resistência (sistêmico) para um sistema de baixa resistência (pulmonar)[142].

A liberação exacerbada de catecolaminas causa uma vasoconstrição venosa e arterial sistêmica e pulmonar súbita e transitória, elevando a pressão hidrostática nos capilares pulmonares, que são lesados favorecendo a passagem de líquido para os alvéolos. Este evento ocorre quando a pressão hidrostática atinge 40mmHg. Após o dano epitelial capilar, advém lesão na membrana basal desses capilares e subsequente lesão no epitélio alveolar, com extravasamento de hemácias e proteínas para o espaço alveolar[143].

Essas alterações aumentam o trabalho cardíaco e ocasiona depressão miocárdica, aumentando o risco de edema pulmonar. Pacientes com baixa reserva cardíaca apresentam maior risco para desenvolver edema, a arritmias graves e até mesmo paradas cardiorrespiratórias são descritas[15, 144].

Normalmente os pulmões, átrio e ventrículo esquerdos possuem cerca de 24% da volemia corporal, mas pode chegar a 72% em função das alterações decorrentes da morte encefálica. Essas alterações elevam a pressão no átrio esquerdo acima da pressão arterial pulmonar, que associado ao aumento do fluxo sanguíneo pulmonar

resultam em ruptura dos capilares pulmonares e hemorragia intersticial septal[12]. Aumento da pressão capilar pulmonar também se deve à vasoconstrição venosa pulmonar[145].

Para Avlonitis et al, a teoria da explosão explicaria a existência de 2 mecanismos no edema pulmonar: a alta permeabilidade e a hidrostática. O grau de hipertensão capilar determinará se as forças de Starling direcionarão o fluxo pelo endotélio ou se a lesão das paredes capilares permitirá a passagem de água ou mesmo de hemácias para o espaço alveolar ou interstício. No entanto, essa teoria não exclui a existência de um segundo mecanismo onde a ação adrenérgica agiria diretamente alterando a permeabilidade capilar[93].

As alterações hemodinâmicas decorrentes da tempestade simpática podem ser inibidas pelo bloqueio α -adrenérgico, secção da medula espinhal, secção dos nervos esplâncnicos, e bloqueio raquimedular. No entanto não são inibidos pela adrenalectomia ou por β -bloqueadores. Esses achados indicam que a noradrenalina liberada tem origem no neurônio simpático distal, e não na adrenal[132, 146].

A noradrenalina e o peptídeo Y são neurotransmissores localizados em vesículas na extremidade distal do neurônio simpático, sendo liberadas após dano cerebral. Ambos são potentes vasoconstritores associados ao aumento da permeabilidade capilar pulmonar[2, 147, 148].

A lesão endotelial ocasiona a liberação de endotelina-1, potente vasoconstritor. Modelo de edema pulmonar neurogênico verificou que há um aumento tempo-dependente dos níveis de endotelina-1 no lavado broncoalveolar. O pré-tratamento com inibidor da enzima conversora de endotelina-1 protege o pulmão diminuindo a concentração desse constritor no lavado[133].

Outro estudo demonstrou que instilação intra-traqueal de endotelina-1 aumenta em até 22 vezes a permeabilidade vascular pulmonar ocasionando edema pulmonar. No entanto, a administração endovenosa não surtiu o mesmo efeito. Já o pré-tratamento com antagonista seletivo de endotelina impediu o aumento da permeabilidade pulmonar e o edema[149].

O óxido nítrico parece ter um efeito protetor no edema pulmonar neurogênico. Em modelos de trauma cerebral direto ou trauma medular, observou-se que a administração de inibidores de óxido nítrico ocasionam elevação da permeabilidade capilar favorecendo o edema. Além disso, a administração de L-arginina, precursor do óxido nítrico, diminui o risco de edema, reforçando a tese do óxido nítrico como protetor do pulmão quanto ao edema pulmonar neurogênico[150-152].

2.3.6 Mecanismo inflamatório

Concomitantemente aos eventos hemodinâmicos pós morte encefálica ocorrem eventos inflamatórios sistêmicos. Essa resposta inflamatória sistêmica tem sido associada com citocinas cerebrais. No entanto, há muitas discussões sobre o real papel dessas citocinas, e se a resposta inflamatória se deve a fatores centrais ou periféricos[132].

Lesão cerebral grave ocasiona liberação pelos astrócitos e células microgliais de citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6[153]. Essas citocinas atravessam a barreira hemato-encefálica e atingem tecidos e órgãos periféricos[154], resultando na expressão de IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α e INF- γ em órgãos periféricos, como o pulmão[67].

Após a lesão cerebral, os macrófagos alveolares produzem IL-1 e TNF- α , envolvidas na gênese da lesão pulmonar aguda[72]. Essas citocinas estimulam células endoteliais a expressar moléculas de adesão como ICAM-1, selectina-P e selectina-E, e de IL-8 na membrana alvéolo-capilar. Sendo a IL-8 um potente ativador de neutrófilos, estes ligam-se às células endoteliais migrando para o interstício e espaços alveolares, ocasionando liberação de espécies reativas de oxigênio, enzimas proteolíticas e outras citocinas[100]. Sabe-se que níveis elevados de IL-8 no lavado broncoalveolar estão associados com síndrome da angústia respiratória aguda[101], morte encefálica[9], disfunção aguda do enxerto e mortalidade precoce do receptor[10].

Uma marcada liberação de interleucina-1 β (IL-1 β) foi detectada através de microdiálise cerebral em modelo de trauma craniano em ratos[155]. Modelos de dano cerebral por impacto cortical controlado induziram a expressão de substância P e neurocinina A no córtex frontal[156]. Tais peptídeos provocam broncoconstrição e edema na mucosa brônquica, além de aumento da permeabilidade capilar pulmonar, edema pulmonar e ativação leucocitária[157].

Em modelo porcino de morte encefálica, não foi observada diferença nos parâmetros ecocardiográficos entre os grupos controle e morte encefálica, sugerindo que o edema pulmonar não seria consequência da disfunção cardíaca. Este mesmo estudo verificou que o nível de neuropeptídeo Y no lavado broncoalveolar sugere uma ação local, e não uma ação vasoconstritora sistêmica. Como os níveis de PaO₂ observados no grupo morte encefálica foram normais, os autores sugerem que o local de ação deste neuropeptídeo seria em nível pós-capilar, e não diretamente no endotélio[139].

Outras evidências da importância do mecanismo inflamatório na gênese do edema pulmonar neurogênico são estudos clínicos e experimentais demonstrando os benefícios do uso de anti-inflamatórios e corticóides[25, 26, 28].

2.3.7 Interação entre os mecanismos simpático, hemodinâmico e inflamatório

Segundo Avlonitis, os mecanismos desencadeadores do edema pulmonar neurogênico e a lesão pulmonar aguda estão relacionados. A tempestade simpática pode gerar o edema pulmonar neurogênico por ação simpática direta na permeabilidade capilar pulmonar ou pelos efeitos hemodinâmicos. Ao mesmo tempo, a morte encefálica também desencadearia uma resposta inflamatória como resultado da isquemia cerebral ou dos efeitos hemodinâmicos da tempestade simpática[93].

As citocinas liberadas após lesão cerebral são muito provavelmente as grandes responsáveis pela ativação inflamatória nos órgãos periféricos. Estudo experimental que realizou circulação cruzada entre ratos controle e com morte encefálica induzida subitamente verificou um aumento dos níveis de moléculas inflamatórias linfocitárias e leucocitárias[67].

Isquemia cerebral focal ou global provoca a liberação de IL-1 β e TNF- α no cérebro[158]. Essas citocinas induzem a produção de IL-6. Pacientes em unidade de terapia intensiva por trauma craniano tiveram coletas sanguíneas da veia jugular com níveis de IL-6 maiores que no sangue arterial[159]. Esses achados reforçam a teoria da liberação cerebral de IL-6, sendo esta uma citocina encontrada em níveis elevados no lavado broncoalveolar de pacientes com síndrome da angústia respiratória[160, 161].

Outro estudo clínico verificou que pacientes vítimas de acidente vascular cerebral tinham expressão aumentada de IL-1 β , IL-8, IL-17 nas células mononucleares periféricas, concluindo que isquemia cerebral estimula leucócitos periféricos a produzir citocinas inflamatórias[161].

A tempestade simpática pode ativar a resposta inflamatória tanto pela ativação endotelial quanto pela isquemia de órgãos periféricos. Administração de antagonistas das selectinas-P e E inibiu a expressão de citocinas na periferia em modelo murino de morte encefálica[86].percebe-se que há associação entre ativação endotelial e a cascata inflamatória, mas esses achados não elucidam a etiologia da ativação endotelial. Avlonitis sugere que as alterações hemodinâmicas oriundas da tempestade simpática ativa células endoteliais que produzem espécies reativas de oxigênio, ativam receptores NF- κ B e aumentam a expressão de moléculas de adesão e citocinas[93].

Outro modelo experimental de trauma cerebral direto verificou que os níveis de espécies reativas de oxigênio pulmonares só era diferente após 24 horas do evento[162].

2.3.8 Alterações morfológicas

Modelo de trauma cerebral verificou por microscopia eletrônica que o dano celular já apresentasse 2 horas após a lesão cerebral, piorando nas 24 horas seguintes. Não se observaram alterações na ultra-estrutura do pneumócito tipo I e na membrana alvéolo-capilar. Ao contrário, o pneumócito tipo II apresentou intenso edema intracelular, representado pela dilatação do complexo de Golgi e do retículo endoplasmático liso e edema mitocondrial[162].

2.3.9 Tratamento

Com tratamento adequado, o edema pulmonar neurogênico pode ser revertido em até 48-72 horas, podendo ser direcionado para a causa do dano cerebral, como craniotomia descompressiva ou controle das convulsões[122].

A escolha do regime de ventilação deve ser feita baseado no nível de consciência de paciente e da gravidade do caso, podendo ser não invasiva, com intubação, sedação e uso de PEEP. PEEP menores que 15cmH₂O são preconizados por não impedir a perfusão cerebral[163]. Hipercapnia permissiva e ventilação em prona devem ser utilizadas com cautela sempre mantendo a pressão intracraniana normal[164, 165].

Com relação aos eventos hemodinâmicos, os esforços devem objetivar a diminuição da pré e da pós-carga bem como o restabelecimento da contratilidade miocárdica, não devendo-se administrar vasodilatadores cerebrais. O uso de esmolol como anti-hipertensivo na tempestade simpática aumentou a probabilidade de sucesso no transplante cardíaco em estudo de coorte[166]. No entanto, o uso de β -bloqueadores deve ser proscrito em pacientes com evidências de insuficiência cardíaca pós-tempestade simpática[132]. Estudo retrospectivo verificou que o uso de dobutamina reverteu a depressão miocárdica, diminui a elevação da pressão arterial pulmonar e aumentou a razão PaO₂/FiO₂ após 6 horas do início da infusão, não comprometendo a perfusão cerebral[167]. Estudos experimentais sugerem que o uso de adrenalina e noradrenalina não agrava o edema pulmonar neurogênico, não aumentando a permeabilidade vascular pulmonar apesar do aumento na pressão capilar[168]. Outro estudo experimental verificou que a adrenalina produzida na adrenal aumenta o clearance de líquido alveolar estimulando o transporte de sódio, sugerindo participação da adrenalina endógena na resolução do quadro de edema pulmonar neurogênico[169]. Diuréticos podem ser utilizados desde que se mantenha a

pressão arterial e a pressão de perfusão cerebral adequadas. Estudo recente demonstrou que balanço hídrico positivo em doadores de múltiplos órgãos não diminui o risco de disfunção precoce ou tardia em enxertos renais. Sendo assim, restrição hídrica que mantenha uma pressão venosa central menor que 6mmHg seria uma estratégia para diminuir o risco de edema pulmonar neurogênico[169].

Lidocaína intratecal em ratos submetidos à morte encefálica inibiu o colapso cardiovascular e diminuiu as áreas de edema pulmonar quando comparado com grupo controle[71].

Modelo experimental de hemorragia subaracnóidea em camundongos verificou que a inibição da caspase-1 evitou a apoptose celular pulmonar e o edema pulmonar neurogênico[170].

O objetivo principal do manejo neurológico deve ser o de diminuir a hipertensão craniana com manutenção da perfusão cerebral. Manitol e solução hipertônica são geralmente usadas nessas situações. Infusão salina 5% ou 7,5% mostrou-se melhor que manitol para diminuir os edemas cerebral e pulmonar em modelo de infarto cerebral extenso por oclusão de carótida[171].

2.4 Corticóides no transplante pulmonar

2.4.1 Mecanismo de ação

Os corticóides apresentam mecanismo de ação inespecífico. São rapidamente absorvidos, com pico de concentração entre 1 e 3 horas, biodisponibilidade de 80%, e tempo de meia vida de 1 a 3 horas. Sua metabolização é no fígado, onde a prednisona é convertida a prednisolona. Os efeitos clínicos como antiinflamatório e imunossupressor são bem estabelecidos, mas os mecanismos indefinidos. Em

condições fisiológicas, os corticóides participam na maturação intratímica dos linfócitos T e na expressão do MHC, mas em condições suprafisiológicas inibem a proliferação celular de linfócitos T, a imunidade dependente de célula T e a transcrição gênica para citocinas, incluindo IL-1, IL-2, IL-6, INF- γ e TNF- α [172, 173]. O complexo heterodimérico formado pela associação dos corticóides com seus receptores intracelulares interfere em uma região regulatória específica do DNA, interferindo com a síntese ou ligação de fatores de transcrição (NF κ B, AP-1, AMPc), na região promotora dos genes que codificam para as principais interleucinas pró-inflamatórias[172, 174]. Embora nenhum esquema imunossupressor exclua o corticóide, ele causa bloqueio inespecífico de outros genes, resultando em redução do crescimento ponderal, doença cardiovascular com hipertensão arterial, hiperlipidemia, obesidade, intolerância à glicose, catarata, necrose asséptica de cabeça de fêmur e perda óssea acentuada[175].

2.4.2 Administração e estudos clínicos

Nos primeiros transplantes, a dose de corticóide (metilprednisolona) inicialmente utilizada em associação com a azatioprina se situava entre 2 e 20 mg/kg/dia nas primeiras semanas, com redução progressiva, alcançando entre 0,2 e 0,3 mg/kg/dia após os primeiros 6 meses. A dose de manutenção atualmente utilizada é inferior a 10mg, sendo considerada a administração em dias alternados, especialmente em crianças[176]. Entretanto, mesmo a administração única matinal diária é incoerente com a curta meia vida do corticóide, sendo justificada por ser mais apropriada ao seu ritmo circadiano de metabolismo[177].

Os corticóides, especialmente metilprednisolona na dose de 15mg/Kg, são recomendados por diversos estudos na manutenção de órgãos doadores,

principalmente coração e pulmão. Como exposto acima, durante a morte encefálica há liberação de diversas citocinas lesivas aos órgãos doadores (TNF- α , IL-1, IL-6). Pulmão e coração são provavelmente os órgãos mais afetados por essas alterações, com consequente contusão pulmonar e edema neurogênico[46]. Outros estudos mostram aumento da infiltração neutrofílica e dos níveis de IL-8 no lavado broncoalveolar de pulmões de doadores em morte encefálica, podendo se associar com uma maior incidência de disfunção primária do enxerto e mortalidade precoce do receptor[47, 48]. A administração de corticóides logo após o estabelecimento de morte encefálica poderia inibir a liberação de citocinas inflamatórias, estabilizar membranas celulares, reduzir a expressão de moléculas de adesão, e interferir na peroxidação lipídica pós-isquemia, podendo aumentar o número de órgãos viáveis para transplante[46].

Selck et al observaram que a administração de esteroides, e não a de hormônios tireóideos, poderia elevar o número de órgãos viáveis[178].

Nicolas-Robin et al demonstraram que uso de hidrocortisona em pacientes em morte encefálica com necessidade de vasopressor reduziu em até 30% a dose deste 180 minutos após sua administração[45]. 87% destes pacientes apresentavam insuficiência adrenal, e a resposta à hidrocortisona foi maior nos não-responsivos ao teste de ACTH.

Foi demonstrado que metilprednisolona melhora a função pulmonar e a condição geral do órgão doador. Na morte encefálica, os corticóides atuam de diversas maneiras: diminuem a liberação de radicais livres e mediadores inflamatórios (TNF e interleucinas), e inibem a ativação de neutrófilos[37].

2.4.3 Estudos experimentais

Inibição de NO sintetase em modelo experimental murino de transplante pulmonar resultou na prevenção de rejeição aguda do enxerto[179]. Estudos *in vitro* demonstraram que uso de esteroides em células gliais diminuem a liberação de mediadores inflamatórios e inibem a produção de NO sintetase, prevenindo a cascata de reações inflamatórias e protegendo as células contra insulto isquêmico[180].

O uso de dexametasona em modelo de oclusão de artéria cerebral média de ratos reduziu a expressão de TNF- α e a cascata inflamatória[181].

Recentemente nosso grupo conduziu um estudo experimental administrando metilprednisolona em modelo murino de morte encefálica em dois momentos. Demonstramos que os efeitos anti-inflamatórios no tecido pulmonar da administração de corticóide 5 e 60 minutos após o evento foram similares[30].

3. JUSTIFICATIVA

O transplante pulmonar é a última opção terapêutica para pacientes com doença pulmonar em estágio terminal. A maioria dos potenciais doadores de pulmão encontra-se em morte encefálica, e cerca de somente 20% dos pulmões são viáveis para transplante. O número de doadores não tem acompanhado o número de pacientes em lista de espera, dificultando o sucesso dos programas de transplante pulmonar. Além disso, a lesão pulmonar aguda é outro fator limitante, aumentando o tempo de internação em UTI e predispondo à bronquiolite obliterante, principal causa de rejeição crônica.

Diversos estudos experimentais e clínicos indicam que a intervenção farmacológica com corticóides pode reduzir os eventos inflamatórios ocasionados pela morte encefálica nos pulmões dos doadores, otimizando a viabilidade de órgãos.

Recentemente nosso grupo mostrou que tanto a administração precoce quanto a tardia de metilprednisolona em modelo de morte encefálica reduziu a produção de TNF- α em ratos doadores com efeitos semelhantes.

Os resultados de um estudo experimental comprovando que a corticoterapia em doadores em morte encefálica pode reduzir a atividade inflamatória de pulmões transplantados permite que esta estratégia terapêutica possa ser analisada em estudos clínicos, visando melhorar os resultados pós transplante através da redução da lesão de reperfusão.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar as alterações na atividade inflamatória decorrentes do uso de metilprednisolona intravenosa em pulmões transplantados quando administrada 60 minutos após a morte encefálica em ratos doadores.

4.2 Objetivos específicos

Avaliar a influência do tratamento com metilprednisolona intravenosa sobre o estresse oxidativo em pulmões transplantados a partir de ratos doadores em morte encefálica.

Analisar a influência do tratamento com metilprednisolona intravenosa na expressão de citocinas em pulmões transplantados a partir de ratos doadores em morte encefálica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] TRANSPLANTATION TISFHL. ISHLT Transplant Registry Quarterly Reports for Lung in South America: Characteristics for Transplants performed between January 1, 2010 and December 31, 2011 and Survival Rates for Transplants performed between July 1, 2007 and June 30, 2011
- [2] Avlonitis VS, Wigfield CH, Kirby JA, Dark JH. The hemodynamic mechanisms of lung injury and systemic inflammatory response following brain death in the transplant donor. *Am J Transplant.* 2005 Apr;5(4 Pt 1):684-93.
- [3] Trulock EP, Christie JD, Edwards LB, Boucek MM, Aurora P, Taylor DO, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report-2007. *J Heart Lung Transplant.* 2007 Aug;26(8):782-95.
- [4] Thabut G, Vinatier I, Stern JB, Leseche G, Loirat P, Fournier M, et al. Primary graft failure following lung transplantation: predictive factors of mortality. *Chest.* 2002 Jun;121(6):1876-82.
- [5] Christie JD, Bavaria JE, Palevsky HI, Litzky L, Blumenthal NP, Kaiser LR, et al. Primary graft failure following lung transplantation. *Chest.* 1998 Jul;114(1):51-60.
- [6] Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Kern JA, Jones DR, et al. Ischemia-reperfusion injury after lung transplantation increases risk of late bronchiolitis obliterans syndrome. *Ann Thorac Surg.* 2002 Apr;73(4):1041-7; discussion 7-8.
- [7] Clark SF, Martin S, Carozzi AJ, Hill MM, James DE. Intracellular localization of phosphatidylinositide 3-kinase and insulin receptor substrate-1 in adipocytes: potential involvement of a membrane skeleton. *J Cell Biol.* 1998 Mar 9;140(5):1211-25.
- [8] Eppinger MJ, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Mediators of ischemia-reperfusion injury of rat lung. *Am J Pathol.* 1997 May;150(5):1773-84.
- [9] Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Burdick MD, Strieter RM, Dark JH, et al. Enhanced pulmonary inflammation in organ donors following fatal non-traumatic brain injury. *Lancet.* 1999 Apr 24;353(9162):1412-3.
- [10] Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Haslett C, Strieter RM, Dark JH, et al. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Jan;163(1):259-65.
- [11] Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med.* 1995 Aug 10;333(6):333-6.

- [12] Novitzky D, Wicomb WN, Rose AG, Cooper DK, Reichart B. Pathophysiology of pulmonary edema following experimental brain death in the chacma baboon. *Ann Thorac Surg.* 1987 Mar;43(3):288-94.
- [13] Rosner MJ, Newsome HH, Becker DP. Mechanical brain injury: the sympathoadrenal response. *J Neurosurg.* 1984 Jul;61(1):76-86.
- [14] van Loon J, Shivalkar B, Plets C, Goffin J, Tjandra-Maga TB, Flameng W. Catecholamine response to a gradual increase of intracranial pressure. *J Neurosurg.* 1993 Nov;79(5):705-9.
- [15] Mertes PM, el Abassi K, Jaboin Y, Burtin P, Pinelli G, Carteaux JP, et al. Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig. *Transplantation.* 1994 Aug 27;58(4):414-8.
- [16] Herijgers P, Borgers M, Flameng W. The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part I. Is the heart damaged? *Cardiovasc Res.* 1998 Apr;38(1):98-106.
- [17] Herijgers P, Flameng W. The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part II. The cause of the in vivo haemodynamic changes. *Cardiovasc Res.* 1998 Apr;38(1):107-15.
- [18] Simmons RL, Martin AM, Jr., Heisterkamp CA, 3rd, Ducker TB. Respiratory insufficiency in combat casualties. II. Pulmonary edema following head injury. *Ann Surg.* 1969 Jul;170(1):39-44.
- [19] Cameron GR, De SN. Experimental pulmonary cedema of nervous origin. *The Journal of Pathology and Bacteriology.* 1949;61(3):375-87.
- [20] Sarnoff SJ, Sarnoff LC. Neurohemodynamics of pulmonary edema. I. Autonomic influence on pulmonary vascular pressures and the acute pulmonary edema state; a preliminary report. *Dis Chest.* 1952 Dec;22(6):685-98.
- [21] Sarnoff SJ, Sarnoff LC. Neurohemodynamics of pulmonary edema. II. The role of sympathetic pathways in the elevation of pulmonary and stemic vascular pressures following the intracisternal injection of fibrin. *Circulation.* 1952 Jul;6(1):51-62.
- [22] Hoff JT, Nishimura M, Garcia-Uria J, Miranda S. Experimental neurogenic pulmonary edema. Part 1: The role of systemic hypertension. *J Neurosurg.* 1981 May;54(5):627-31.
- [23] Bittner HB, Kendall SW, Chen EP, Craig D, Van Trigt P. The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamics and pulmonary blood flow characteristics. *Chest.* 1995 Nov;108(5):1358-63.
- [24] Zweers N, Petersen AH, van der Hoeven JA, de Haan A, Ploeg RJ, de Leij LF, et al. Donor brain death aggravates chronic rejection after lung transplantation in rats. *Transplantation.* 2004 Nov 15;78(9):1251-8.

- [25] Minnear FL, Connell RS. Prevention of Aconitine-induced Neurogenic Pulmonary Edema (NPE) with Hypovolemia or Methylprednisolone. 1982;121-8.
- [26] Edmonds HL, Jr., Cannon HC, Jr., Garretson HD, Dahlquist G. Effects of aerosolized methylprednisolone on experimental neurogenic pulmonary injury. *Neurosurgery*. 1986 Jul;19(1):36-40.
- [27] Follette DM, Rudich SM, Babcock WD. Improved oxygenation and increased lung donor recovery with high-dose steroid administration after brain death. *J Heart Lung Transplant*. 1998 Apr;17(4):423-9.
- [28] Wigfield C, Golledge H, Shenton B, Kirby J, Dark J. Ameliorated reperfusion injury in lung transplantation after reduction of brain death induced inflammatory graft damage in the donor. *J Heart Lung Transplant*. 2002;21(1):57.
- [29] Rosendale JD, Kauffman HM, McBride MA, Chabalewski FL, Zaroff JG, Garrity ER, et al. Aggressive pharmacologic donor management results in more transplanted organs. *Transplantation*. 2003 Feb 27;75(4):482-7.
- [30] Pilla E. Influência da administração de metilprednisolona na atividade inflamatória e no estresse oxidativo de pulmões de ratos submetidos à morte encefálica [Tese (DOCTORADO)]. Porto Alegre-RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
- [31] Nicolas-Robin A, Barouk JD, Amour J, Coriat P, Riou B, Langeron O. Hydrocortisone supplementation enhances hemodynamic stability in brain-dead patients. *Anesthesiology*. 2010 May;112(5):1204-10.
- [32] Pestana JOM. Análise de ensaios terapêuticos que convergem para a individualização da imunossupressão no transplante renal [TESE (Livre-Docência)]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2001.
- [33] Israelita AEH. Diretrizes Assistenciais - Preparo e Acompanhamento do Transplante de Pulmão. 2012.
- [34] Pratschke J, Neuhaus P, Tullius SG. What can be learned from brain-death models? *Transpl Int*. 2005 Jan;18(1):15-21.
- [35] Contatti. Transplante Pulmonar. [cited 01/10/2012]; Available from: http://www.contatti.com.br/nx3/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=15&Itemid=35
- [36] Trulock EP. Lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Mar;155(3):789-818.
- [37] Sundaresan S, Trachiotis GD, Aoe M, Patterson GA, Cooper JD. Donor lung procurement: assessment and operative technique. *Ann Thorac Surg*. 1993 Dec;56(6):1409-13.

- [38] Christie JD, Kotloff RM, Pochettino A, Arcasoy SM, Rosengard BR, Landis JR, et al. Clinical risk factors for primary graft failure following lung transplantation. *Chest*. 2003 Oct;124(4):1232-41.
- [39] Zaas D, Palmer SM. Respiratory failure early after lung transplantation: now that we know the extent of the problem, what are the solutions? *Chest*. 2003 Jan;123(1):14-6.
- [40] King RC, Binns OA, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD, et al. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac Surg*. 2000 Jun;69(6):1681-5.
- [41] Christie JD, Van Raemdonck D, de Perrot M, Barr M, Keshavjee S, Arcasoy S, et al. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part I: introduction and methods. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Oct;24(10):1451-3.
- [42] de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Feb 15;167(4):490-511.
- [43] de Perrot M, Bonser RS, Dark J, Kelly RF, McGiffin D, Menza R, et al. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part III: donor-related risk factors and markers. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Oct;24(10):1460-7.
- [44] Westphal GA, Vieira KD, Orzechowski R, Kaefer KM, Zacliffe VR, Mastroeni MF. [Analysis of quality of life following hospital discharge among survivors of severe sepsis and septic shock]. *Rev Panam Salud Publica*. 2012 Jun;31(6):499-505.
- [45] A definition of irreversible coma. Report of the Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to Examine the Definition of Brain Death. *Jama*. 1968 Aug 5;205(6):337-40.
- [46] Medicina CFd. Resolução CFM no 1.346/91. Brasil 1991.
- [47] Medicina CFd. Resolução CFM no 1.480/97. Brasil 1997.
- [48] Rosenberg RN. Consciousness, coma, and brain death--2009. *Jama*. 2009 Mar 18;301(11):1172-4.
- [49] Truog RD. Is it time to abandon brain death? *Hastings Cent Rep*. 1997;27(1):29-37.
- [50] Coimbra CG. Morte Encefálica: Um Diagnóstico Agonizante. *Rev Neurociências*. 1998;6(2):58-68.
- [51] Shewmon DA. The probability of inevitability: the inherent impossibility of validating criteria for brain death or 'irreversibility' through clinical studies. *Stat Med*. 1987 Jul-Aug;6(5):535-53.
- [52] Jeret JS, Benjamin JL. Risk of hypotension during apnea testing. *Arch Neurol*. 1994 Jun;51(6):595-9.

- [53] Yee AH, Mandrekar J, Rabinstein AA, Wijidicks EF. Predictors of apnea test failure during brain death determination. *Neurocrit Care*. Jun;12(3):352-5.
- [54] Reith J, Jorgensen HS, Pedersen PM, Nakayama H, Raaschou HO, Jeppesen LL, et al. Body temperature in acute stroke: relation to stroke severity, infarct size, mortality, and outcome. *Lancet*. 1996 Feb 17;347(8999):422-5.
- [55] Shiozaki T, Sugimoto H, Taneda M, Yoshida H, Iwai A, Yoshioka T, et al. Effect of mild hypothermia on uncontrollable intracranial hypertension after severe head injury. *J Neurosurg*. 1993 Sep;79(3):363-8.
- [56] Biswas AK, Bruce DA, Sklar FH, Bokovoy JL, Sommerauer JF. Treatment of acute traumatic brain injury in children with moderate hypothermia improves intracranial hypertension. *Crit Care Med*. 2002 Dec;30(12):2742-51.
- [57] Marion DW, Penrod LE, Kelsey SF, Obrist WD, Kochanek PM, Palmer AM, et al. Treatment of traumatic brain injury with moderate hypothermia. *N Engl J Med*. 1997 Feb 20;336(8):540-6.
- [58] Solomon M, Grasemann H, Keshavjee S. Pediatric lung transplantation. *Pediatr Clin North Am*. Apr;57(2):375-91, table of contents.
- [59] Oto T. Lung transplantation from donation after cardiac death (non-heart-beating) donors. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2008 Nov;56(11):533-8.
- [60] Órgãos ABdTd. Centros de transplante. [cited 05/10/2012]; Available from: <http://www.abto.org.br/abtov02/portugues/populacao/doacaoOrgaosTecidos/perguntas/SobreDoacaoOrgaos.aspx?idCategoria=4>
- [61] Fernandes PM, Samano MN, Junqueira JJ, Waisberg DR, Noletto GS, Jatene FB. [Lung donor profile in the State of Sao Paulo, Brazil, in 2006]. *J Bras Pneumol*. 2008 Jul;34(7):497-505.
- [62] Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Beato F, Milford EL, Hancock WW, et al. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors. *Ann Surg*. 2000 Aug;232(2):263-71.
- [63] Wilhelm MJ, Pratschke J, Beato F, Taal M, Kusaka M, Hancock WW, et al. Activation of the heart by donor brain death accelerates acute rejection after transplantation. *Circulation*. 2000 Nov 7;102(19):2426-33.
- [64] Ciccone AM, Stewart KC, Meyers BF, Guthrie TJ, Battafarano RJ, Trulock EP, et al. Does donor cause of death affect the outcome of lung transplantation? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002 Mar;123(3):429-34; discussion 34-6.
- [65] van Der Hoeven JA, Ter Horst GJ, Molema G, de Vos P, Girbes AR, Postema F, et al. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunologic activation of the potential donor liver in the rat. *Ann Surg*. 2000 Dec;232(6):804-13.

- [66] Neyrinck AP, Van De Wauwer C, Geudens N, Rega FR, Verleden GM, Wouters P, et al. Comparative study of donor lung injury in heart-beating versus non-heart-beating donors. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 Oct;30(4):628-36.
- [67] Takada M, Nadeau KC, Hancock WW, Mackenzie HS, Shaw GD, Waaga AM, et al. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation*. 1998 Jun 27;65(12):1533-42.
- [68] Colice GL. Neurogenic pulmonary edema. *Clin Chest Med*. 1985 Sep;6(3):473-89.
- [69] Garcia-Uria J, Hoff JT, Miranda S, Nishimura M. Experimental neurogenic pulmonary edema Part 2: The role of cardiopulmonary pressure change. *J Neurosurg*. 1981 May;54(5):632-6.
- [70] Mac KE. Experimental pulmonary edema. IV. Pulmonary edema accompanying trauma to the brain. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1950 Aug;74(4):695-7.
- [71] Hall SR, Wang L, Milne B, Ford S, Hong M. Intrathecal lidocaine prevents cardiovascular collapse and neurogenic pulmonary edema in a rat model of acute intracranial hypertension. *Anesth Analg*. 2002 Apr;94(4):948-53, table of contents.
- [72] Lentsch AB, Ward PA. Regulation of experimental lung inflammation. *Respir Physiol*. 2001 Oct;128(1):17-22.
- [73] Chen EP, Bittner HB, Kendall SW, Van Trigt P. Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death. *Crit Care Med*. 1996 Aug;24(8):1352-9.
- [74] Schrader H, Zwetnow NN, Morkrid L. Regional cerebral blood flow and CSF pressures during Cushing response induced by a supratentorial expanding mass. *Acta Neurol Scand*. 1985 Jun;71(6):453-63.
- [75] Schmidt EA, Czosnyka Z, Momjian S, Czosnyka M, Bech RA, Pickard JD. Intracranial baroreflex yielding an early cushing response in human. *Acta Neurochir Suppl*. 2005;95:253-6.
- [76] Fodstad H, Kelly PJ, Buchfelder M. History of the cushing reflex. *Neurosurgery*. 2006 Nov;59(5):1132-7; discussion 7.
- [77] Bittner HB, Kendall SW, Chen EP, Van Trigt P. Endocrine changes and metabolic responses in a validated canine brain death model. *J Crit Care*. 1995 Jun;10(2):56-63.
- [78] Barklin A, Larsson A, Vestergaard C, Kjaergaard A, Wogensen L, Schmitz O, et al. Insulin alters cytokine content in two pivotal organs after brain death: a porcine model. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2008 May;52(5):628-34.

- [79] Novitzky D, Cooper DK, Morrell D, Isaacs S. Change from aerobic to anaerobic metabolism after brain death, and reversal following triiodothyronine therapy. *Transplantation*. 1988 Jan;45(1):32-6.
- [80] Gramm HJ, Meinhold H, Bickel U, Zimmermann J, von Hammerstein B, Keller F, et al. Acute endocrine failure after brain death? *Transplantation*. 1992 Nov;54(5):851-7.
- [81] Arita K, Uozumi T, Oki S, Kurisu K, Ohtani M, Mikami T. The function of the hypothalamo-pituitary axis in brain dead patients. *Acta Neurochir (Wien)*. 1993;123(1-2):64-75.
- [82] Wilhelm MJ, Pratschke J, Laskowski IA, Paz DM, Tilney NL. Brain death and its impact on the donor heart-lessons from animal models. *J Heart Lung Transplant*. 2000 May;19(5):414-8.
- [83] Mertes PM, Burtin P, Carteaux JP, Jaboin Y, Dopff C, Pinelli G, et al. Brain death and myocardial injury: role of cardiac sympathetic innervation evaluated by in vivo interstitial microdialysis. *Transplant Proc*. 1994 Feb;26(1):231-2.
- [84] Shivalkar B, Van Loon J, Wieland W, Tjandra-Maga TB, Borgers M, Plets C, et al. Variable effects of explosive or gradual increase of intracranial pressure on myocardial structure and function. *Circulation*. 1993 Jan;87(1):230-9.
- [85] Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Laskowski I, Tilney NL. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. *Transplantation*. 2000 Feb 15;69(3):427-30.
- [86] Wicomb WN, Cooper DK, Novitzky D. Impairment of renal slice function following brain death, with reversibility of injury by hormonal therapy. *Transplantation*. 1986 Jan;41(1):29-33.
- [87] Nagareda T, Kinoshita Y, Tanaka A, Takeda M, Sakano T, Yawata K, et al. Clinicopathology of kidneys from brain-dead patients treated with vasopressin and epinephrine. *Kidney Int*. 1993 Jun;43(6):1363-70.
- [88] van der Hoeven JA, Molema G, Ter Horst GJ, Freund RL, Wiersema J, van Schilfgaarde R, et al. Relationship between duration of brain death and hemodynamic (in)stability on progressive dysfunction and increased immunologic activation of donor kidneys. *Kidney Int*. 2003 Nov;64(5):1874-82.
- [89] Lin H, Yamamoto Y, Okamoto R, Ueda J, Yamamoto S, Mori K, et al. Hepatic functional difference between brain death hypotension and hypovolemic hypotension in liver donation. *Transplant Proc*. 1989 Feb;21(1 Pt 2):2389-91.
- [90] Okamoto S, Corso CO, Nolte D, Rascher W, Thiery J, Yamaoka Y, et al. Impact of brain death on hormonal homeostasis and hepatic microcirculation of transplant organ donors. *Transpl Int*. 1998;11 Suppl 1:S404-7.

- [91] Toyama H, Takada M, Suzuki Y, Kuroda Y. Brain death-induced expression of ICAM-1 and VCAM-1 on rat hepatocytes. *Hepatogastroenterology*. 2003 Nov-Dec;50(54):1854-6.
- [92] Jassem W, Koo DD, Cerundolo L, Rela M, Heaton ND, Fuggle SV. Leukocyte infiltration and inflammatory antigen expression in cadaveric and living-donor livers before transplant. *Transplantation*. 2003 Jun 27;75(12):2001-7.
- [93] Avlonitis VS, Fisher AJ, Kirby JA, Dark JH. Pulmonary transplantation: the role of brain death in donor lung injury. *Transplantation*. 2003 Jun 27;75(12):1928-33.
- [94] Toyama H, Takada M, Suzuki Y, Kuroda Y. Activation of macrophage-associated molecules after brain death in islets. *Cell Transplant*. 2003;12(1):27-32.
- [95] Novitzky D. Detrimental effects of brain death on the potential organ donor. *Transplant Proc*. 1997 Dec;29(8):3770-2.
- [96] Hoffman SW, Moore S, Ellis EF. Isoprostanes: free radical-generated prostaglandins with constrictor effects on cerebral arterioles. *Stroke*. 1997 Apr;28(4):844-9.
- [97] Yeo JE, Kang SK. Selenium effectively inhibits ROS-mediated apoptotic neural precursor cell death in vitro and in vivo in traumatic brain injury. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Dec;1772(11-12):1199-210.
- [98] Amado JA, Lopez-Espadas F, Vazquez-Barquero A, Salas E, Riancho JA, Lopez-Cordovilla JJ, et al. Blood levels of cytokines in brain-dead patients: relationship with circulating hormones and acute-phase reactants. *Metabolism*. 1995 Jun;44(6):812-6.
- [99] Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2009 Apr;53(4):425-35.
- [100] Strieter RM, Kunkel SL. Acute lung injury: the role of cytokines in the elicitation of neutrophils. *J Investig Med*. 1994 Dec;42(4):640-51.
- [101] Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, et al. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet*. 1993 Mar 13;341(8846):643-7.
- [102] Donnelly SC, Strieter RM, Reid PT, Kunkel SL, Burdick MD, Armstrong I, et al. The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist in the lung fluids of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med*. 1996 Aug 1;125(3):191-6.
- [103] Birks EJ, Owen VJ, Burton PB, Bishop AE, Banner NR, Khaghani A, et al. Tumor necrosis factor-alpha is expressed in donor heart and predicts right ventricular failure after human heart transplantation. *Circulation*. 2000 Jul 18;102(3):326-31.

- [104] Barklin A, Larsson A, Vestergaard C, Koefoed-Nielsen J, Bach A, Nyboe R, et al. Does brain death induce a pro-inflammatory response at the organ level in a porcine model? *Acta Anaesthesiol Scand*. 2008 May;52(5):621-7.
- [105] Van Der Hoeven JA, Moshage H, Schuurs T, Nijboer M, Van Schilfgaarde R, Ploeg RJ. Brain death induces apoptosis in donor liver of the rat. *Transplantation*. 2003 Oct 27;76(8):1150-4.
- [106] Zhou HC, Ding WG, Cui XG, Pan P, Zhang B, Li WZ. Carbon monoxide inhalation ameliorates conditions of lung grafts from rat brain death donors. *Chin Med J (Engl)*. 2008 Aug 5;121(15):1411-9.
- [107] O'Neill LA, Fitzgerald KA, Bowie AG. The Toll-IL-1 receptor adaptor family grows to five members. *Trends Immunol*. 2003 Jun;24(6):286-90.
- [108] Andrade CF, Waddell TK, Keshavjee S, Liu M. Innate immunity and organ transplantation: the potential role of toll-like receptors. *Am J Transplant*. 2005 May;5(5):969-75.
- [109] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature*. 2002 Jul 11;418(6894):191-5.
- [110] Vogel SN, Fitzgerald KA, Fenton MJ. TLRs: differential adapter utilization by toll-like receptors mediates TLR-specific patterns of gene expression. *Mol Interv*. 2003 Dec;3(8):466-77.
- [111] Shimamoto A, Pohlman TH, Shomura S, Tarukawa T, Takao M, Shimpo H. Toll-like receptor 4 mediates lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*. 2006 Dec;82(6):2017-23.
- [112] Guillot L, Medjane S, Le-Barillec K, Balloy V, Danel C, Chignard M, et al. Response of human pulmonary epithelial cells to lipopolysaccharide involves Toll-like receptor 4 (TLR4)-dependent signaling pathways: evidence for an intracellular compartmentalization of TLR4. *J Biol Chem*. 2004 Jan 23;279(4):2712-8.
- [113] Rostron AJ, Cork DM, Avlonitis VS, Fisher AJ, Dark JH, Kirby JA. Contribution of Toll-like receptor activation to lung damage after donor brain death. *Transplantation*. 2010 Oct 15;90(7):732-9.
- [114] Kang CH, Anraku M, Cypel M, Sato M, Yeung J, Gharib SA, et al. Transcriptional signatures in donor lungs from donation after cardiac death vs after brain death: a functional pathway analysis. *J Heart Lung Transplant*. 2011 Mar;30(3):289-98.
- [115] Adrie C, Monchi M, Fulgencio JP, Cottias P, Haouache H, Alvarez-Gonzalvez A, et al. Immune status and apoptosis activation during brain death. *Shock*. 2010 Apr;33(4):353-62.

- [116] McLean KM, Duffy JY, Pandalai PK, Lyons JM, Bulcao CF, Wagner CJ, et al. Glucocorticoids alter the balance between pro- and anti-inflammatory mediators in the myocardium in a porcine model of brain death. *J Heart Lung Transplant*. 2007 Jan;26(1):78-84.
- [117] Lyons JM, Pearl JM, McLean KM, Akhter SA, Wagner CJ, Pandalai PK, et al. Glucocorticoid administration reduces cardiac dysfunction after brain death in pigs. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Dec;24(12):2249-54.
- [118] Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Sep 12;97(19):10526-31.
- [119] Yildirim E, Solaroglu I, Okutan O, Ozisik K, Kaptanoglu E, Sargon MF, et al. Ultrastructural changes in tracheobronchial epithelia following experimental traumatic brain injury in rats: protective effect of erythropoietin. *J Heart Lung Transplant*. 2004 Dec;23(12):1423-9.
- [120] Nijboer WN, Ottens PJ, van Dijk A, van Goor H, Ploeg RJ, Leuvenink HG. Donor pretreatment with carbamylated erythropoietin in a brain death model reduces inflammation more effectively than erythropoietin while preserving renal function. *Crit Care Med*. 2010 Apr;38(4):1155-61.
- [121] Brambrink AM, Dick WF. [Neurogenic pulmonary edema. Pathogenesis, clinical picture and therapy]. *Anaesthesist*. 1997 Nov;46(11):953-63.
- [122] Baumann A, Audibert G, McDonnell J, Mertes PM. Neurogenic pulmonary edema. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007 Apr;51(4):447-55.
- [123] Inobe JJ, Mori T, Ueyama H, Kumamoto T, Tsuda T. Neurogenic pulmonary edema induced by primary medullary hemorrhage: a case report. *J Neurol Sci*. 2000 Jan 1;172(1):73-6.
- [124] Walder B, Brundler MA, Totsch M, Elia N, Morel DR. Influence of the type and rate of subarachnoid fluid infusion on lethal neurogenic pulmonary edema in rats. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2002 Jul;14(3):194-203.
- [125] Solenski NJ, Haley EC, Jr., Kassell NF, Kongable G, Germanson T, Truskowski L, et al. Medical complications of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a report of the multicenter, cooperative aneurysm study. Participants of the Multicenter Cooperative Aneurysm Study. *Crit Care Med*. 1995 Jun;23(6):1007-17.
- [126] Bratton SL, Davis RL. Acute lung injury in isolated traumatic brain injury. *Neurosurgery*. 1997 Apr;40(4):707-12; discussion 12.
- [127] Rogers FB, Shackford SR, Trevisani GT, Davis JW, Mackersie RC, Hoyt DB. Neurogenic pulmonary edema in fatal and nonfatal head injuries. *J Trauma*. 1995 Nov;39(5):860-6; discussion 6-8.

- [128] Chakinala MM, Kollef MH, Trulock EP. Critical Care Aspects of Lung Transplant Patients. *Journal of Intensive Care Medicine*. 2002 January 1, 2002;17(1):8-33.
- [129] Simon RP. Neurogenic pulmonary edema. *Neurol Clin*. 1993 May;11(2):309-23.
- [130] Colice GL, Matthay MA, Bass E, Matthay RA. Neurogenic pulmonary edema. *Am Rev Respir Dis*. 1984 Nov;130(5):941-8.
- [131] Talman WT, Perrone MH, Reis DJ. Acute hypertension after the local injection of kainic acid into the nucleus tractus solitarius of rats. *Circulation research*. 1981 Feb;48(2):292-8.
- [132] Reynolds RW. Pulmonary Edema as a Consequence of Hypothalamic Lesions in Rats. *Science*. 1963 Sep 6;141(3584):930-2.
- [133] Herbst C, Tippler B, Shams H, Simmet T. A role for endothelin in bicuculline-induced neurogenic pulmonary oedema in rats. *Br J Pharmacol*. 1995 Jul;115(5):753-60.
- [134] Millen JE, Glauser FL. Low levels of concussive brain trauma and pulmonary edema. *J Appl Physiol*. 1983 Mar;54(3):666-70.
- [135] Levasseur JE, Patterson JL, Jr., Garcia CI, Moskowitz MA, Choi SC, Kontos HA. Effect of neonatal capsaicin treatment on neurogenic pulmonary edema from fluid-percussion brain injury in the adult rat. *J Neurosurg*. 1993 Apr;78(4):610-8.
- [136] Hoff JT, Nishimura M. Experimental neurogenic pulmonary edema in cats. *J Neurosurg*. 1978 Mar;48(3):383-9.
- [137] Sedy J, Urdzikova L, Likavcanova K, Hejcl A, Jendelova P, Sykova E. A new model of severe neurogenic pulmonary edema in spinal cord injured rat. *Neurosci Lett*. 2007 Aug 16;423(2):167-71.
- [138] Leal Filho MB, Morandin RC, de Almeida AR, Cambiucci EC, Metze K, Borges G, et al. Hemodynamic parameters and neurogenic pulmonary edema following spinal cord injury: an experimental model. *Arq Neuropsiquiatr*. 2005 Dec;63(4):990-6.
- [139] Barklin A, Theodorsson E, Tyvold SS, Larsson A, Granfeldt A, Sloth E, et al. Alteration of neuropeptides in the lung tissue correlates brain death-induced neurogenic edema. *J Heart Lung Transplant*. 2009 Jul;28(7):725-32.
- [140] Darragh TM, Simon RP. Nucleus tractus solitarius lesions elevate pulmonary arterial pressure and lymph flow. *Ann Neurol*. 1985 Jun;17(6):565-9.
- [141] Sakakibara H, Hashiba Y, Taki K, Kawanishi M, Shimada Y, Ishikawa N. Effect of sympathetic nerve stimulation on lung vascular permeability in the rat. *Am Rev Respir Dis*. 1992 Mar;145(3):685-92.
- [142] Theodore J, Robin ED. Pathogenesis of neurogenic pulmonary oedema. *Lancet*. 1975 Oct 18;2(7938):749-51.

- [143] Hachenberg T, Rettig R. Stress failure of the blood-gas barrier. *Curr Opin Anaesthesiol.* 1998 Feb;11(1):37-44.
- [144] Di Pasquale G, Pinelli G, Andreoli A, Manini GL, Grazi P, Tognetti F. Torsade de pointes and ventricular flutter-fibrillation following spontaneous cerebral subarachnoid hemorrhage. *Int J Cardiol.* 1988 Feb;18(2):163-72.
- [145] Maron MB, Dawson CA. Pulmonary venoconstriction caused by elevated cerebrospinal fluid pressure in the dog. *J Appl Physiol.* 1980 Jul;49(1):73-8.
- [146] Maron MB. Analysis of airway fluid protein concentration in neurogenic pulmonary edema. *J Appl Physiol.* 1987 Feb;62(2):470-6.
- [147] Hamdy O, Nishiwaki K, Yajima M, Murakami HO, Maekawa H, Moy RT, et al. Presence and quantification of neuropeptide Y in pulmonary edema fluids in rats. *Exp Lung Res.* 2000 Apr-May;26(3):137-47.
- [148] Hirabayashi A, Nishiwaki K, Shimada Y, Ishikawa N. Role of neuropeptide Y and its receptor subtypes in neurogenic pulmonary edema. *Eur J Pharmacol.* 1996 Feb 5;296(3):297-305.
- [149] Poulat P, Couture R. Increased pulmonary vascular permeability and oedema induced by intrathecally injected endothelins in rat. *Eur J Pharmacol.* 1998 Mar 5;344(2-3):251-9.
- [150] Sedy J, Zicha J, Kunes J, Hejcl A, Sykova E. The role of nitric oxide in the development of neurogenic pulmonary edema in spinal cord-injured rats: the effect of preventive interventions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009 Oct;297(4):R1111-7.
- [151] Feng GG, Nishiwaki K, Kondo H, Shimada Y, Ishikawa N. Inhibition of fibrin-induced neurogenic pulmonary edema by previous unilateral left-vagotomy correlates with increased levels of brain nitric oxide synthase in the nucleus tractus solitarii of rats. *Auton Neurosci.* 2002 Nov 29;102(1-2):1-7.
- [152] Hamdy O, Maekawa H, Shimada Y, Feng GG, Ishikawa N. Role of central nervous system nitric oxide in the development of neurogenic pulmonary edema in rats. *Crit Care Med.* 2001 Jun;29(6):1222-8.
- [153] Woiciechowsky C, Schoning B, Daberkow N, Asche K, Lanksch WR, Docke WD, et al. Brain IL-1beta increases neutrophil and decreases lymphocyte counts through stimulation of neuroimmune pathways. *Neurobiol Dis.* 1999 Jun;6(3):200-8.
- [154] Ott L, McClain CJ, Gillespie M, Young B. Cytokines and metabolic dysfunction after severe head injury. *J Neurotrauma.* 1994 Oct;11(5):447-72.
- [155] Fassbender K, Schneider S, Bertsch T, Schlueter D, Fatar M, Ragoschke A, et al. Temporal profile of release of interleukin-1beta in neurotrauma. *Neurosci Lett.* 2000 Apr 28;284(3):135-8.

- [156] Rall JM, Matzilevich DA, Dash PK. Comparative analysis of mRNA levels in the frontal cortex and the hippocampus in the basal state and in response to experimental brain injury. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2003 Apr;29(2):118-31.
- [157] Campos MM, Calixto JB. Neurokinin mediation of edema and inflammation. *Neuropeptides.* 2000 Oct;34(5):314-22.
- [158] McKeating EG, Andrews PJ, Signorini DF, Mascia L. Transcranial cytokine gradients in patients requiring intensive care after acute brain injury. *Br J Anaesth.* 1997 May;78(5):520-3.
- [159] Martin TR. Lung cytokines and ARDS: Roger S. Mitchell Lecture. *Chest.* 1999 Jul;116(1 Suppl):2S-8S.
- [160] Lin WC, Lin CF, Chen CL, Chen CW, Lin YS. Prediction of outcome in patients with acute respiratory distress syndrome by bronchoalveolar lavage inflammatory mediators. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010 Jan;235(1):57-65.
- [161] Kostulas N, Pelidou SH, Kivisakk P, Kostulas V, Link H. Increased IL-1beta, IL-8, and IL-17 mRNA expression in blood mononuclear cells observed in a prospective ischemic stroke study. *Stroke.* 1999 Oct;30(10):2174-9.
- [162] Yildirim E, Kaptanoglu E, Ozisik K, Beskonakli E, Okutan O, Sargon MF, et al. Ultrastructural changes in pneumocyte type II cells following traumatic brain injury in rats. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004 Apr;25(4):523-9.
- [163] Videtta W, Villarejo F, Cohen M, Domeniconi G, Santa Cruz R, Pinillos O, et al. Effects of positive end-expiratory pressure on intracranial pressure and cerebral perfusion pressure. *Acta Neurochir Suppl.* 2002;81:93-7.
- [164] Nekludov M, Bellander BM, Mure M. Oxygenation and cerebral perfusion pressure improved in the prone position. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2006 Sep;50(8):932-6.
- [165] Marshall SA, Nyquist P. A change of position for neurogenic pulmonary edema. *Neurocrit Care.* 2009;10(2):213-7.
- [166] Audibert G, Charpentier C, Seguin-Devaux C, Charretier PA, Gregoire H, Devaux Y, et al. Improvement of donor myocardial function after treatment of autonomic storm during brain death. *Transplantation.* 2006 Oct 27;82(8):1031-6.
- [167] Deehan SC, Grant IS. Haemodynamic changes in neurogenic pulmonary oedema: effect of dobutamine. *Intensive Care Med.* 1996 Jul;22(7):672-6.
- [168] Shibamoto T, Wang HG, Tanaka S, Koyama S. No effects of large doses of catecholamines on vascular permeability in isolated blood-perfused dog lungs. *Acta Physiol Scand.* 1995 Oct;155(2):127-35.
- [169] Minambres E, Rodrigo E, Ballesteros MA, Llorca J, Ruiz JC, Fernandez-Fresnedo G, et al. Impact of restrictive fluid balance focused to increase lung

procurement on renal function after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jul;25(7):2352-6.

[170] Suzuki H, Sozen T, Hasegawa Y, Chen W, Zhang JH. Caspase-1 inhibitor prevents neurogenic pulmonary edema after subarachnoid hemorrhage in mice. *Stroke*. 2009 Dec;40(12):3872-5.

[171] Toung TJ, Chang Y, Lin J, Bhardwaj A. Increases in lung and brain water following experimental stroke: effect of mannitol and hypertonic saline. *Crit Care Med*. 2005 Jan;33(1):203-8; discussion 59-60.

[172] Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS, Jr. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science*. 1995 Oct 13;270(5234):283-6.

[173] Wilckens T, De Rijk R. Glucocorticoids and immune function: unknown dimensions and new frontiers. *Immunol Today*. 1997 Sep;18(9):418-24.

[174] Paliogianni F, Raptis A, Ahuja SS, Najjar SM, Boumpas DT. Negative transcriptional regulation of human interleukin 2 (IL-2) gene by glucocorticoids through interference with nuclear transcription factors AP-1 and NF-AT. *J Clin Invest*. 1993 Apr;91(4):1481-9.

[175] Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky EV, Curtis JJ, Quarles LD. Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N Engl J Med*. 1991 Aug 22;325(8):544-50.

[176] Dumler F, Levin NW, Szego G, Vulpetti AT, Preuss LE. Long-term alternate day steroid therapy in renal transplantation. A controlled study. *Transplantation*. 1982 Aug;34(2):78-82.

[177] Grant SD, Forsham PH, DiRaimondo VC. Suppression of 17-hydroxycorticosteroids in plasma and urine by single and divided doses of triamcinolone. *N Engl J Med*. 1965 Nov 18;273(21):1115-8.

[178] Selck FW, Deb P, Grossman EB. Deceased organ donor characteristics and clinical interventions associated with organ yield. *Am J Transplant*. 2008 May;8(5):965-74.

[179] Shiraishi T, DeMeester SR, Worrall NK, Ritter JH, Misko TP, Ferguson TB, Jr., et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates rat lung allograft rejection. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995 Nov;110(5):1449-59; discussion 60.

[180] Gupta YK, Chauhan A. Potential of immunosuppressive agents in cerebral ischaemia. *Indian J Med Res*. 2011 Jan;133:15-26.

[181] Bertorelli R, Adami M, Di Santo E, Ghezzi P. MK 801 and dexamethasone reduce both tumor necrosis factor levels and infarct volume after focal cerebral ischemia in the rat brain. *Neurosci Lett*. 1998 Apr 17;246(1):41-4.

6. ARTIGO

Effect of the systemic administration of methylprednisolone on the lungs of brain-dead donor rats undergoing pulmonary transplantation

INTRODUCTION: Lung transplantation is the only therapeutic option for a subset of patients with end-stage lung disease. Most lung transplantations are performed using brain-dead donors, a condition that compromises the success of the procedure. The pathophysiology of brain death is complex and involves haemodynamics, the sympathetic nervous system and inflammatory mechanisms. Administering methylprednisolone 60 minutes after inducing brain death in rats has been shown to modulate pulmonary inflammatory activity. **OBJECTIVE:** To evaluate the effects of methylprednisolone on transplanted rat lungs from donors treated 60 minutes after brain death. **METHODS:** Twelve Wistar rats were anaesthetised and randomly assigned to 1 of 2 groups (n=6): a control group that underwent the induction of brain death and the administration of saline solution and a methylprednisolone (MET) group that underwent the induction of brain death and the administration of methylprednisolone after 60 minutes. All of the animals were observed and ventilated for 120 minutes and then submitted to lung transplantation. We evaluated haemodynamic and blood gas parameters, the histologic score, the lung tissue determination of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), the level of superoxide dismutase (SOD), the level of TNF- α and the level of interleukin-1 β (IL-1 β). **RESULTS:** There was a significant reduction in the levels of TNF- α and IL-1 β in the group that received methylprednisolone ($p=0.0084$ and $p=0.0155$, respectively). There were no significant differences in TBARS and SOD between the control and MET groups ($p=0.2644$ and $p=0.7461$, respectively). There were no significant differences in the blood gas parameters, the haemodynamic parameters and the histologic alterations between the control and MET groups. **CONCLUSION:** The administration of methylprednisolone after brain death in donor rats reduces inflammatory activity in transplanted lungs but has no influence on oxidative stress.

INTRODUCTION

The availability of donor organs remains a challenge faced by transplantation programs worldwide. This issue is a particular problem for lung transplantation, which serves as the ultimate option for patients with end-stage pulmonary disease. Approximately 5-20% of donors elected for organ retrieval have lungs that are considered viable for lung transplant. However, there have been an increasing number of patients enrolled on waiting lists[1-4].

Brain-dead donors still represent the main source of organs for transplantation. It is well known that brain death compromises the viability of transplanted solid organs. Brain death affects lung donor viability through sympathetic, haemodynamic and inflammatory mechanisms that lead to adrenergic storm and neurogenic pulmonary oedema[5, 6]. In addition, these lungs are at risk for acute lung injury secondary to trauma, prolonged mechanical ventilation, transfusion, ischemia, aspiration and infection[5, 7].

Currently, increasing evidence suggests that organ grafts are not immunologically inert. Donor risk factors, such as previous disease, age, the cause of death, donor management and, most importantly, brain death, reprogram the graft into an immunologically active organ[7, 8]. Some approaches that aim to treat potential brain-dead donors may reduce the immune activation and improve the condition of the lung to be transplanted[9].

The administration of systemic corticosteroids to brain-dead donors is known to be beneficial mostly because it modulates the systemic inflammatory response caused by brain death[10]. This modulation improves graft viability by reducing both the release of pro-inflammatory molecules and the production of leukocyte adhesion molecules, thereby increasing the alveolar fluid clearance[10, 11]. However, the optimal timing for the administration of corticosteroids during brain death remains

unknown. Previously, we showed that the administration of methylprednisolone at 5 min and 60 min in a model system of brain-death similarly reduced the levels of TNF- α [12]. In the present study, we hypothesise that the transplanted lungs from donors treated with methylprednisolone after 60 minutes of brain death would exhibit less inflammatory activity than those of donors without any treatment.

Material and methods

The Ethical and Research Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre approved the protocols used in this study. All of the animals received humane care that was in compliance with the Principles of Laboratory Animal Care formulated by the National Society for Medical Research and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, published by the National Institutes of Health, Publication No. 86-23, revised 1996).

Surgical Procedure

Twelve male rats, weighing 300-400 g each, underwent general anaesthesia induced with an intraperitoneal injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (15 mg/kg). Anaesthesia was followed by a tracheostomy using an indwelling 14-gauge cannula (Abbocath® #14; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, EUA) and ventilation at a rate of 70-80 breaths/min with a tidal volume of 10 ml/kg of inspired room air (Harvard Rodent Ventilator, model 683; Harvard Apparatus Co., Millis, MA). The right carotid artery was dissected and cannulated using a 24-gauge cannula (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) to record the mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) (Sirecust 730 Siemens, Solna, Sweden). The right jugular vein was also dissected and cannulated in the same fashion. Normal saline was used to flush the lines, with a total volume of 5 ml/kg/hour in all of the

animals, and a warmed surgical table was used to maintain the body temperature at 37°C during the procedure.

After 2 hours of brain-death, the donor rat lungs were submitted to an antegrade flush via the pulmonary artery with 20 mL of cold (4°C) low potassium dextran solution (LPD-Perfadex® [Vitrolife, Göteborg, Sweden]) at a pressure of 20 cmH₂O, as described elsewhere[13]. The heart-lung block was extracted with the lungs inflated at the end-tidal volume. The left lung graft was isolated, prepared and stored in LPD at 4°C for 90 minutes.

Twelve recipients were anaesthetised, intubated (14-gauge catheter) and ventilated. Then, they underwent a left thoracotomy, and the pulmonary vessels and left bronchus were anastomosed using a standard cuff technique[13]. The arterial clamps were released approximately 3 hours after harvest. The recipient animals were observed for 2 hours. At the end of the observation period, the pulmonary hilum was clamped, and the lower half of the lung was immediately snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. The upper half of the lung was embedded in 10% formaldehyde for histopathology.

Induction of Brain Death

The brain death model used here has previously been described in detail[14, 15]. Briefly, a frontolateral trepanation (1x1 mm with a dental drill) was performed, and a 14G Fogarty balloon catheter (Baxter Health Care Corp., Irvine, CA, USA) was introduced into the extradural space with the tip pointed caudally. The balloon was inflated with 0.75 ml of water for 1 minute, producing a sudden rise in intracranial pressure, which resulted in a rapidly progressive brain injury leading to immediate brain death. A sharp rise and then a subsequent drop of blood pressure

and heart rate defined the initiation of brain death. The presence of brain death was confirmed by the absence of corneal reflexes and by the apnoea test.

Study groups

After the initial procedures, the animals were randomly assigned to 2 brain-dead donor groups: the controls (n=6) and the corticosteroids (n=6). In the control group (CONTROL), an IV bolus of 0.9% saline solution (0.3 ml) was administered 60 minutes after the induction of brain death. In the corticosteroid group (MET), an IV bolus of methylprednisolone (30 mg/kg) diluted in 0.2 ml of normal saline was administered 60 minutes after the induction of brain death. The timing and dose of methylprednisolone was based on a previous study[12].

Sampling

All of the donor and recipient animals were monitored for 120 minutes and submitted to the same ventilation procedures. Arterial blood samples were drawn at the time of insertion of the arterial line (basal) and at 60 and 120 minutes in the donor groups. In the recipients group, the samples were drawn at 5 minutes and 120 minutes after transplantation for blood gas analysis.

The lower half of the left lung was snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for analyses of the lipid peroxidation and superoxide dismutase (SOD) activity and for the protein quantification of TNF- α and IL-1 β [16].

Pulmonary TNF- α and IL-1 β assay

After the samples were thawed, a 96-well plate was coated with monoclonal antibody to TNF- α and IL-1 β . The wells were filled with either 100 μ l of homogenised lung (dilution 1:2), 100 μ l of positive or negative controls or 100 μ l of recombinant TNF- α or IL-1 β at concentrations established by the manufacturer (Creative Biomart, New York). Then, 100 μ l of polyclonal anti-TNF- α and anti-IL-1 β conjugated with peroxidase was added to the wells for incubation for 3 hours at room temperature. Following the incubation, the plate was washed four times with detergent solution. The colour change was then induced by adding hydrogen peroxide (0.02%) and tetramethylbenzene (2%). The reaction was interrupted 30 minutes later using sulphuric acid (1 M). The colour intensity was measured via the optic density in an ELISA automatic reader (Titertek Multiskan[®]) at a wavelength of 450 nm. The TNF- α and IL-1 β concentrations in the homogenised lung samples were calculated from the results of a standard curve.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) determination

The products generated by lipid peroxidation were quantified using the TBARS reaction and 3 mg of protein per sample. The samples were incubated at 90°C for 30 minutes and then 500 μ L of 0.37% thiobarbituric acid and 15% trichloroacetic acid were added to the samples, and they were centrifuged at 4°C at 2000 x G for 15 minutes. The absorbance was determined using spectrophotometry at 535 nm[17].

Superoxide Dismutase (SOD)

The activity of SOD was determined using the pulse radiolytic method based on the auto-oxidation of epinephrine, as described by Misra and Fridovich[18].

Histology

The fragment of lung fixed in formalin was embedded in paraffin, cut into 3mm sections and stained with haematoxylin and eosin. A pathologist blinded to the experimental protocol performed a quantitative examination under light microscopy. Each lung sample was examined under both low and high power fields, and 20 fields were randomly selected and analysed. The severity of the histological lesions was assessed using a five parameter score that included intra-alveolar oedema, hyaline membrane formation, haemorrhage, focal alveolar collapse or consolidation, and epithelial desquamation or the necrosis of airways or alveoli. Each parameter was evaluated semi-quantitatively according to the following scale: 0 = absent, 1 = mild, 2 = moderate, and 3 = prominent. For each animal, the scored value of each parameter was added to produce a final score[19].

Statistical Analysis

All of the data collected from the experiments were coded, recorded, and analysed using SPSS 16.0 for Windows (Chicago, IL, USA). To analyse the differences in the demographic variables over time in each group, the Wilcoxon nonparametric test was used. To analyse the differences in the demographic variables between groups, the Mann-Whitney U nonparametric test was used. For each test, the data are expressed as the median +/- interquartile range (IR), and $p < 0.05$ was accepted as statistically significant. For the cytokine, TBARS, SOD

and histology analyses, Student's t-test was used, the data are expressed as the mean value +/- standard error (SE), and $p < 0.05$ was accepted as statistically significant.

Results

There were no differences between the two groups regarding the procedure time, the blood gas measurements and the mean arterial pressure. In the donor rats, the mean arterial pressure dropped significantly in both groups after the induction of brain death ($p < 0.05$) (table 1). There were no differences between the two groups in the MAP and the blood gases analyses after transplantation (table 2).

There were no significant differences in the TBARS and SOD assays between the MET and CONTROL groups ($p = 0.2644$ and $p = 0.7461$, respectively) (figures 1 and 2). The TNF- α and IL-1 β tecidual concentrations were significantly lower in the MET group ($p = 0.0084$ and $p = 0.0155$, respectively) (figures 3 and 4).

The severity of the histological damage, as measured by the histology score (HIS), was similar in the CONTROL group compared with the MET group (figure 5). The predominant finding was mild focal alveolar collapse and congestion.

Discussion

The early survival rates after lung transplantation have improved[1]. However, long-term survival remains challenging[2, 4]. Immunologic events are considered to be key players in this scenario, and these events may be aggravated by the alterations triggered by brain death[20]. The intensive care of potential donors may reflect the outcome after transplantation. The administration of

methylprednisolone has been suggested as beneficial to promote organ maintenance in brain-dead donors[21].

At present, the use of corticosteroids in potential donors remains controversial. There is consensus regarding neither the time of the first administration nor the ideal dose for an adequate anti-inflammatory effect[22, 23]. Several studies have shown that resuscitative hormonal protocols are promising, but no standard protocols have been accepted to date regarding lung retrieval[22-25]. The use of corticosteroids in brain-dead donors is justified by two potential beneficial effects: a reduction of the inflammatory response and a replacement of the blood hormonal levels. Faropoulos et al observed in a baboon model that cortisol levels are reduced 15-45 minutes after the induction of brain death and had almost disappeared after approximately 4 hours[26].

In our previous study, we found that both early (5 min) and late (60 min) administrations of methylprednisolone similarly reduced TNF- α after 2 hours of brain death. In the present study, we used methylprednisolone administered after 60 minutes of brain death to simulate the clinical scenario, in which the prompt diagnosis of brain death is usually delayed. We retrieved donor lungs after two hours of brain death, under the assumption that there was no harmful impact on lung function until 5 hours of brain death[27]. However, other studies have shown that at least 6 hours is the minimum duration of brain death necessary for the analysis of inflammatory mediators[28].

TNF- α is the main inflammatory mediator after brain death. In addition to its direct participation in the inflammatory process, it is responsible for apoptotic activation[29]. Zhou HC et al showed that carbon monoxide inhalation reduced the expression of the TNF- α , IL-6, adhesion molecules and pro-apoptotic pathways, improving PaO₂/FiO₂, and base excess and acidosis generated by brain-death[30].

Our study showed that the administration of a corticosteroid 1 hour after brain death can reduce the concentration of TNF- α even after lung transplantation, proving its benefit in this scenario.

Several studies have measured IL-1 β levels in acute lung injury[31-33], brain death models[34] and lung transplantation models[35]. High levels of IL-1 β are associated with acute lung injury and rejection[31-33]. In our study, we observed a significant decrease of IL-1 β in the transplanted lungs of brain-dead donors treated with methylprednisolone, reflecting a potential protective anti-inflammatory effect after lung reperfusion that would consequently reduce the ischemia-reperfusion injury.

Cytokines released after brain injury are likely crucial factors for the inflammatory activation that takes place in peripheral organs. Severe cerebral injury leads to astrocyte and microglial cell release of cytokines, such as TNF- α , IL-1 β and IL-6[36]. These cytokines cross the blood-brain barrier and reach peripheral organs and tissues[37], resulting in IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α and INF- γ expression in these organs, lung as well[38]. An experimental study that performed cross circulation between control and sudden brain-dead rats observed an elevation of levels of lymphocytic and leukocyte inflammatory molecules[38].

Focal or generalised cerebral ischemia evokes the release of IL-1 β and TNF- α in the brain[39]. These cytokines induce the production of IL-6. Patients in the intensive care unit for cerebral trauma had samples of jugular vein blood with higher IL-6 levels than those of arterial blood[40]. These findings reinforce the brain release theory of IL-6, as this cytokine is found at high levels in the bronchoalveolar lavage of patients with respiratory distress syndrome[41, 42].

Another clinical study observed that patients with stroke exhibited elevated expression of IL-1 β , IL-8 and IL-17 in peripheral mononuclear cells, concluding that

cerebral ischemia stimulates peripheral leukocytes to produce inflammatory cytokines[42].

Haemodynamic events after brain death occur concomitantly with systemic inflammatory events. This systemic inflammatory response has been associated with brain cytokines. However, there is much discussion regarding the real role of these cytokines and whether the inflammatory response is due to central or peripheral factors[43].

In this study, the administration of methylprednisolone did not change the haemodynamics and blood exchange prior to or after transplantation, indicating that methylprednisolone does not add any additional detrimental effect, as it was shown previously by Pilla et al[12]. However, Wigfield et al used a rat transplantation model and showed better graft function and less inflammatory activity after transplantation in animals treated with methylprednisolone[11].

The present study has some limitations, and extrapolation of our results to clinical scenarios should be done carefully. This study used a small standardised animal model that involves the induction of brain death by a sudden rise of intracranial pressure; these conditions do not always match the clinical situation because intracranial pressure sometimes rises at a slow rate until brain death is established. It is possible that a brain death model that employs a gradual rise of intracranial pressure would be more appropriate[44]. Additionally, the interval between the establishment of brain death and lung harvest is shorter than is common in clinical practice. However, in our experimental model, we tried to reduce all of the confounding factors that were related to the time of preservation and that were detrimental to lung function due to long periods of ventilation after brain death.

We conclude that the administration of methylprednisolone after 60 minutes of brain death in donor rats reduces the inflammatory response after lung

transplantation and has no effect on the lipid peroxidation activity. Further studies with larger animals and models that better simulate the clinical scenarios, such as a longer period of brain death, a longer period prior to intervention, and a gradual increase in the intracranial pressure, are needed to confirm the beneficial effects of this treatment method. We suggest that the administration of methylprednisolone in potential multi-organ donors may be a useful strategy for reducing the dangerous effects of reperfusion after lung transplantation.

References

- [1] Trulock EP, Christie JD, Edwards LB, Boucek MM, Aurora P, Taylor DO, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report-2007. *J Heart Lung Transplant.* 2007 Aug;26(8):782-95.
- [2] Fernandes PM, Samano MN, Junqueira JJ, Waisberg DR, Noletto GS, Jatene FB. [Lung donor profile in the State of Sao Paulo, Brazil, in 2006]. *J Bras Pneumol.* 2008 Jul;34(7):497-505.
- [3] Chakinala MM, Kollef MH, Trulock EP. Critical Care Aspects of Lung Transplant Patients. *Journal of Intensive Care Medicine.* 2002 January 1, 2002;17(1):8-33.
- [4] Organ and tissue donation and transplantation (update 2000). Canadian Medical Association. *Cmaj.* 2000 Jul 25;163(2):206-11.
- [5] Avlonitis VS, Fisher AJ, Kirby JA, Dark JH. Pulmonary transplantation: the role of brain death in donor lung injury. *Transplantation.* 2003 Jun 27;75(12):1928-33.
- [6] Rosenberg RN. Consciousness, coma, and brain death--2009. *Jama.* 2009 Mar 18;301(11):1172-4.
- [7] de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Feb 15;167(4):490-511.
- [8] de Perrot M, Bonser RS, Dark J, Kelly RF, McGiffin D, Menza R, et al. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part III: donor-related risk factors and markers. *J Heart Lung Transplant.* 2005 Oct;24(10):1460-7.
- [9] Pratschke J, Neuhaus P, Tullius SG. What can be learned from brain-death models? *Transpl Int.* 2005 Jan;18(1):15-21.

- [10] Follette DM, Rudich SM, Babcock WD. Improved oxygenation and increased lung donor recovery with high-dose steroid administration after brain death. *J Heart Lung Transplant*. 1998 Apr;17(4):423-9.
- [11] Wigfield C, Golledge H, Shenton B, Kirby J, Dark J. Ameliorated reperfusion injury in lung transplantation after reduction of brain death induced inflammatory graft damage in the donor. *J Heart Lung Transplant*. 2002;21(1):57.
- [12] Pilla E. Influência da administração de metilprednisolona na atividade inflamatória e no estresse oxidativo de pulmões de ratos submetidos à morte encefálica [Tese (DOUTORADO)]. Porto Alegre-RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
- [13] Sanchez PG, Martins LK, Martins FK, Schimer R, Cardoso PF, Andrade CF. Technical modification of unilateral lung transplantation in rats. *J Bras Pneumol*. 2007 Aug;33(4):448-53.
- [14] Bittner HB, Kendall SW, Campbell KA, Montine TJ, Van Trigt P. A valid experimental brain death organ donor model. *J Heart Lung Transplant*. 1995 Mar-Apr;14(2):308-17.
- [15] Herijgers P, Leunens V, Tjandra-Maga TB, Mubagwa K, Flameng W. Changes in organ perfusion after brain death in the rat and its relation to circulating catecholamines. *Transplantation*. 1996 Aug 15;62(3):330-5.
- [16] Pearce ML, Yamashita J, Beazell J. Measurement of Pulmonary Edema. *Circulation research*. 1965 May;16:482-8.
- [17] Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-10.
- [18] Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972 May 25;247(10):3170-5.
- [19] Fujino Y, Goddon S, Chiche JD, Hromi J, Kacmarek RM. Partial liquid ventilation ventilates better than gas ventilation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Aug;162(2 Pt 1):650-7.
- [20] Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Basker M, Cooper DK, Hancock WW, et al. Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. *Transplantation*. 1999 Feb 15;67(3):343-8.
- [21] Dhar R, Cotton C, Coleman J, Brockmeier D, Kappel D, Marklin G, et al. Comparison of high- and low-dose corticosteroid regimens for organ donor management. *J Crit Care*. 2012 Jul 2.

- [22] Kutsogiannis DJ, Pagliarello G, Doig C, Ross H, Shemie SD. Medical management to optimize donor organ potential: review of the literature. *Can J Anaesth*. 2006 Aug;53(8):820-30.
- [23] Rosendale JD, Kauffman HM, McBride MA, Chabalewski FL, Zaroff JG, Garrity ER, et al. Aggressive pharmacologic donor management results in more transplanted organs. *Transplantation*. 2003 Feb 27;75(4):482-7.
- [24] Van Bakel AB, Pitzer S, Drake P, Kay NA, Stroud M, Sade RM. Early hormonal therapy stabilizes hemodynamics during donor procurement. *Transplant Proc*. 2004 Nov;36(9):2573-8.
- [25] Venkateswaran RV, Patchell VB, Wilson IC, Mascaro JG, Thompson RD, Quinn DW, et al. Early donor management increases the retrieval rate of lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg*. 2008 Jan;85(1):278-86; discussion 86.
- [26] Faropoulos K, Apostolakis E. Brain death and its influence on the lungs of the donor: how is it prevented? *Transplant Proc*. 2009 Dec;41(10):4114-9.
- [27] Avlonitis VS, Kirby JA, Dark JH. The effect of time from donor brain death to retrieval on reperfusion injury after lung transplantation. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. 2005;24(2):S121.
- [28] Zweers N, Petersen AH, van der Hoeven JA, de Haan A, Ploeg RJ, de Leij LF, et al. Donor brain death aggravates chronic rejection after lung transplantation in rats. *Transplantation*. 2004 Nov 15;78(9):1251-8.
- [29] Van Der Hoeven JA, Moshage H, Schuurs T, Nijboer M, Van Schilfgaarde R, Ploeg RJ. Brain death induces apoptosis in donor liver of the rat. *Transplantation*. 2003 Oct 27;76(8):1150-4.
- [30] Zhou HC, Ding WG, Cui XG, Pan P, Zhang B, Li WZ. Carbon monoxide inhalation ameliorates conditions of lung grafts from rat brain death donors. *Chin Med J (Engl)*. 2008 Aug 5;121(15):1411-9.
- [31] Strieter RM, Kunkel SL. Acute lung injury: the role of cytokines in the elicitation of neutrophils. *J Investig Med*. 1994 Dec;42(4):640-51.
- [32] Zhang XH, Zhu RM, Xu WA, Wan HJ, Lu H. Therapeutic effects of caspase-1 inhibitors on acute lung injury in experimental severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2007 Jan 28;13(4):623-7.
- [33] Kim DI, Kim SR, Kim HJ, Lee SJ, Lee HB, Park SJ, et al. PI3K-gamma inhibition ameliorates acute lung injury through regulation of I κ B α /NF- κ B pathway and innate immune responses. *J Clin Immunol*. 2012 Apr;32(2):340-51.

- [34] Skrabal CA, Thompson LO, Potapov EV, Southard RE, Joyce DL, Youker KA, et al. Organ-specific regulation of pro-inflammatory molecules in heart, lung, and kidney following brain death. *J Surg Res.* 2005 Jan;123(1):118-25.
- [35] Blocher S, Wilker S, Sucke J, Pfeil U, Dietrich H, Weimer R, et al. Acute rejection of experimental lung allografts: characterization of intravascular mononuclear leukocytes. *Clin Immunol.* 2007 Jul;124(1):98-108.
- [36] Woiciechowsky C, Schoning B, Daberkow N, Asche K, Lanksch WR, Docke WD, et al. Brain IL-1beta increases neutrophil and decreases lymphocyte counts through stimulation of neuroimmune pathways. *Neurobiol Dis.* 1999 Jun;6(3):200-8.
- [37] Ott L, McClain CJ, Gillespie M, Young B. Cytokines and metabolic dysfunction after severe head injury. *J Neurotrauma.* 1994 Oct;11(5):447-72.
- [38] Takada M, Nadeau KC, Hancock WW, Mackenzie HS, Shaw GD, Waaga AM, et al. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation.* 1998 Jun 27;65(12):1533-42.
- [39] McKeating EG, Andrews PJ, Signorini DF, Mascia L. Transcranial cytokine gradients in patients requiring intensive care after acute brain injury. *Br J Anaesth.* 1997 May;78(5):520-3.
- [40] Martin TR. Lung cytokines and ARDS: Roger S. Mitchell Lecture. *Chest.* 1999 Jul;116(1 Suppl):2S-8S.
- [41] Lin WC, Lin CF, Chen CL, Chen CW, Lin YS. Prediction of outcome in patients with acute respiratory distress syndrome by bronchoalveolar lavage inflammatory mediators. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010 Jan;235(1):57-65.
- [42] Kostulas N, Pelidou SH, Kivisakk P, Kostulas V, Link H. Increased IL-1beta, IL-8, and IL-17 mRNA expression in blood mononuclear cells observed in a prospective ischemic stroke study. *Stroke.* 1999 Oct;30(10):2174-9.
- [43] Reynolds RW. Pulmonary Edema as a Consequence of Hypothalamic Lesions in Rats. *Science.* 1963 Sep 6;141(3584):930-2.
- [44] Kolkert JL, t Hart NA, van Dijk A, Ottens PJ, Ploeg RJ, Leuvenink HG. The gradual onset brain death model: a relevant model to study organ donation and its consequences on the outcome after transplantation. *Lab Anim.* 2007 Jul;41(3):363-71.

Tables

	Control donors			Methylprednisolone donors		
	Baseline (median±IR)	After 2 h (median±IR)	<i>p</i>	Baseline (median±IR)	After 2 h (median±IR)	<i>p</i>
PO ₂	84.53 ± 7.07	73.40 ± 26.42	0.48	100.28 ± 32.51	67.30 ± 17.95	0.055
PCO ₂	42.53 ± 14.68	44.38 ± 22.44	0.87	32.00 ± 6.27	37.10 ± 12.39	0.38
MAP	99.96 ± 28.47	54.07 ± 16.13	0.006*	89.68 ± 16.41	59.62 ± 10.73	0.003*

Table 1. Donors blood gases and mean arterial pressure. No significant differences were observed in basal and after 2h blood gases each group. A significant difference was observed between basal and after 2h MAP each group.

Values are expressed at median ± interquartile of the median.

	Control recipients		Methylprednisolone recipients	<i>P</i> *
	Baseline (median±IR)	After 2h (median±IR)		
PO ₂	226.27 ± 132.99	242.55 ± 138.15	191.30 ± 88.49	0.631
			288.98 ± 125.35	0.465
PCO ₂	44.87 ± 6.76	40.52 ± 19.76	38.85 ± 9.88	0.297
			56.74 ± 41.62	0.715
MAP	88.67 ± 18.47	55.44 ± 19.74	69.89 ± 16.75	0.077
			60.72 ± 14.22	0.522

Table 2. Recipients blood gases and mean arterial pressure. No significant differences were observed in basal and after 2h blood gases between groups.

Values are expressed at median ± interquartile range of the median.

* Mann-Whitney U test

Figures

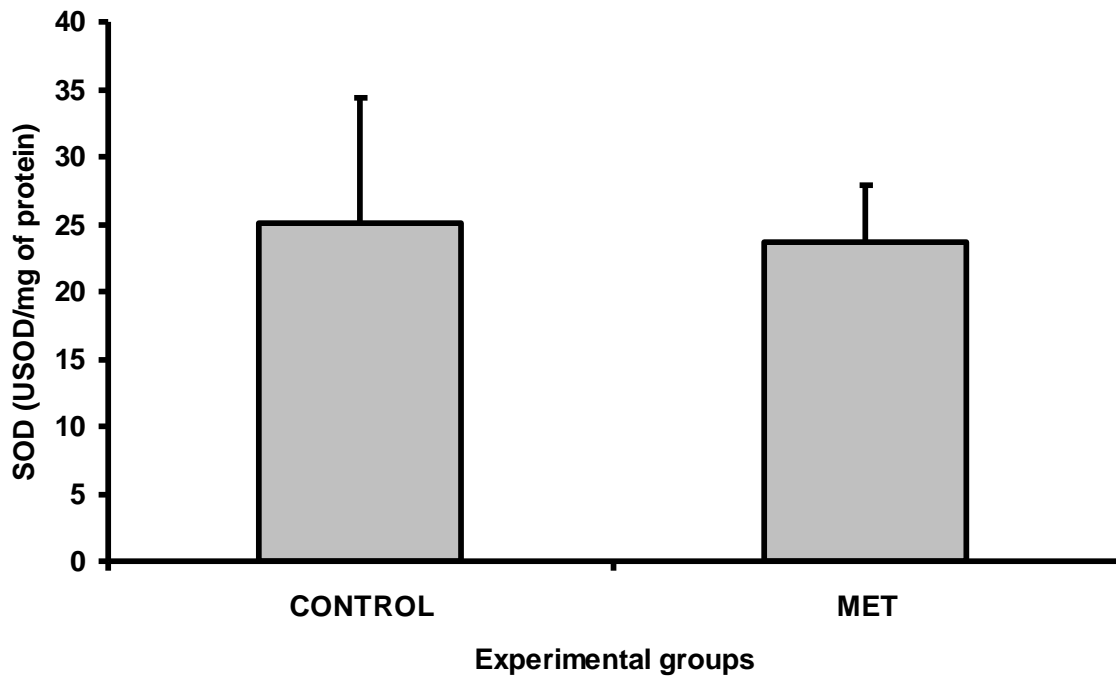


Figure 1. Oxidative stress and brain death. There was no significant difference in SOD in the control group compared to MET group. ($p=0.7461$)

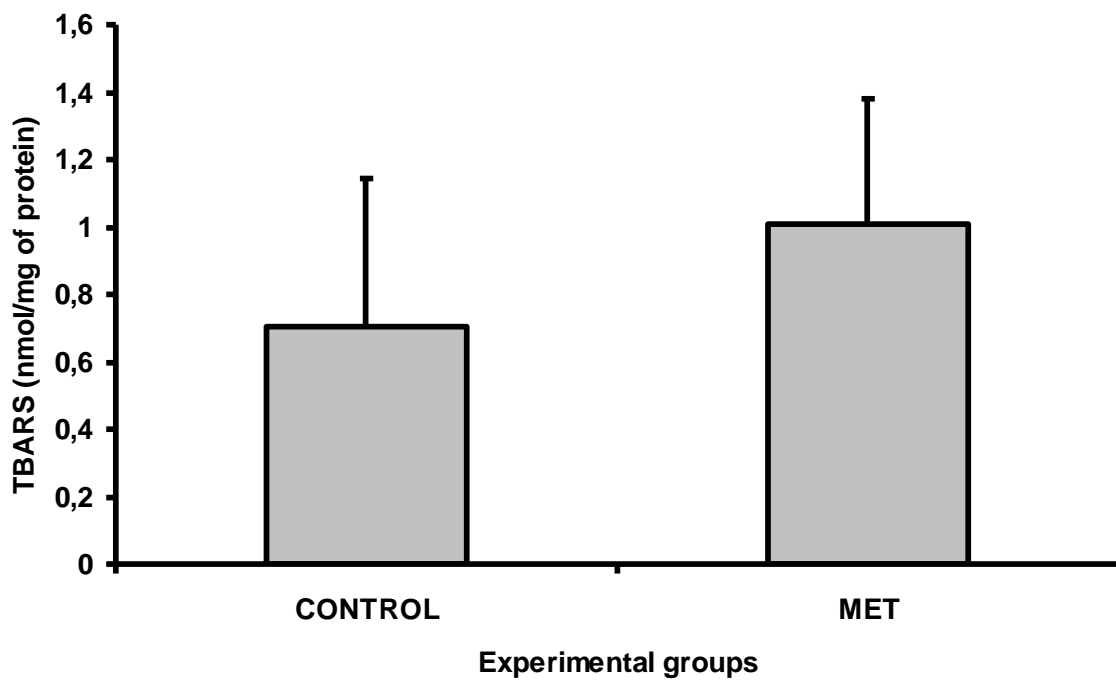


Figure 2. Oxidative stress and brain death. There was no significant differences in TBARS in the control group compared to MET group. ($p=0.2644$)

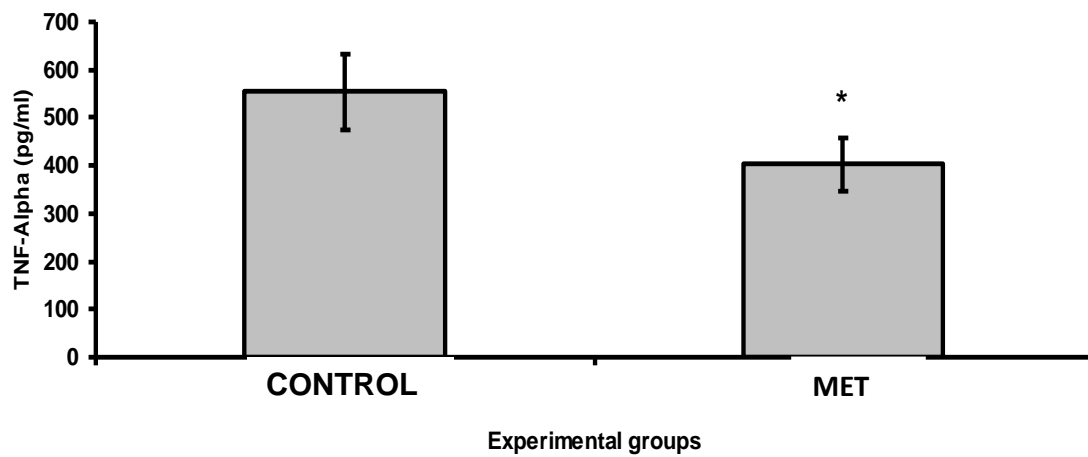


Figure 3. Pulmonary TNF- α assay. There was a significant decrease in TNF- α in MET group compared to control group. (* $p=0.0084$)

Values are mean \pm standard error of the mean.

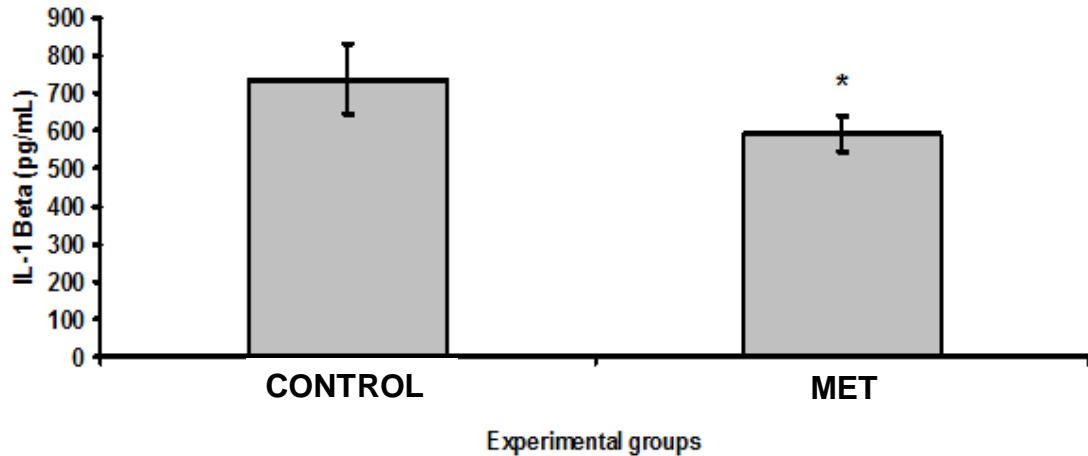


Figure 4. Pulmonary IL-1 β assay. There was a significant decrease in IL-1 β in MET group compared to control group. (* $p=0.0155$)

Values are mean \pm standard error of the mean.

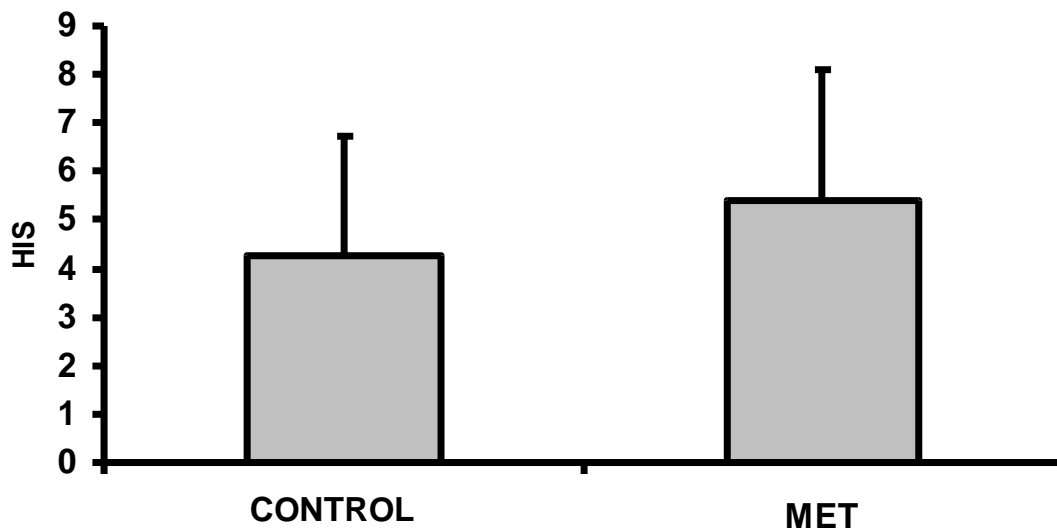


Figure 5. Histological score. No significant difference was observed between groups. Values are expressed at mean \pm standard error of the mean.

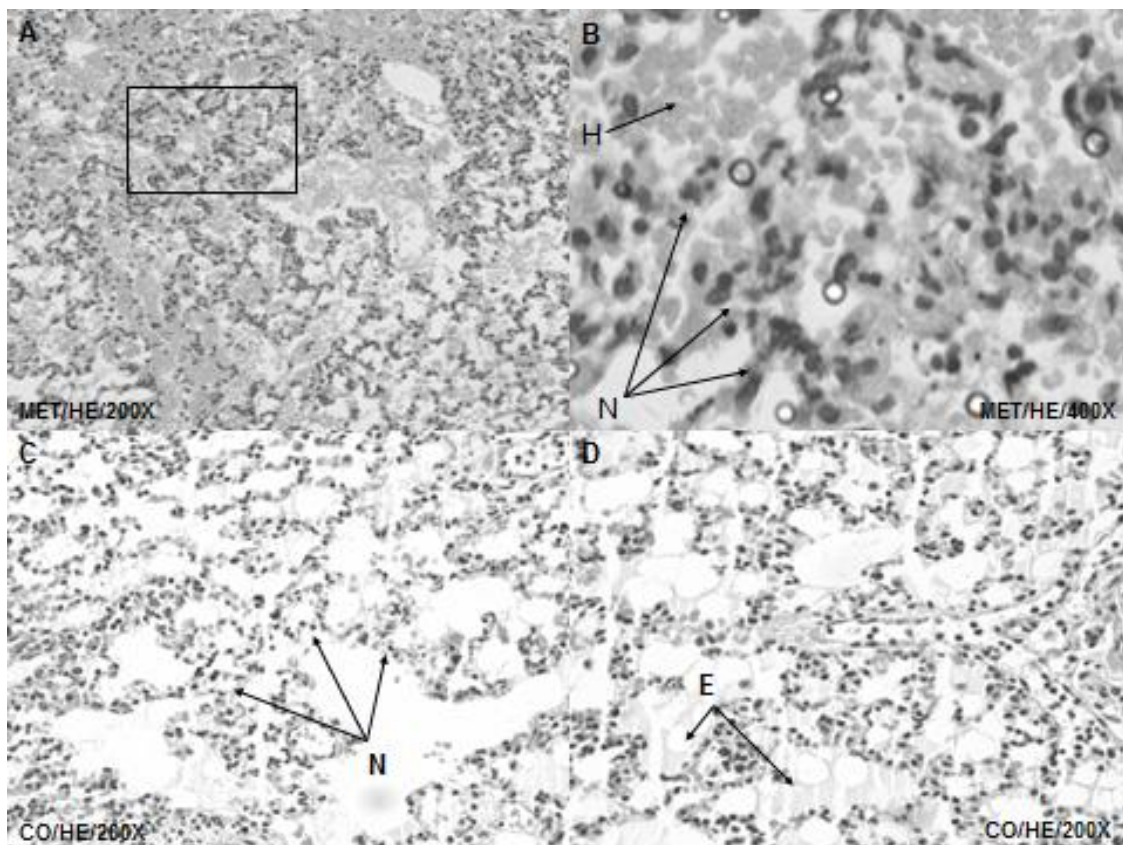


Figure 6. Microscopic optical analysis of haematoxylin-eosin stain. Control group (A and B): N = septal neutrophils recruitment; H = hemorrhage. MET group (C and D): N = septal neutrophils recruitment; E = edema. Magnification 100X, 200X and 400X.

7. CONCLUSÕES

1. A administração sistêmica de metilprednisolona sessenta minutos após a morte encefálica em ratos doadores reduziu a atividade inflamatória de pulmões transplantados.

2. A administração sistêmica de metilprednisolona não interferiu com o estresse oxidativo de pulmões transplantados a partir doadores em morte encefálica.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em estudo prévio nosso grupo de pesquisa mostrou que a administração sistêmica de metilprednisolona reduziu a atividade inflamatória em pulmões de ratos submetidos à morte encefálica. Isto nos motivou a avaliar se esta redução também ocorreria quando estes pulmões fossem transplantados. Demonstramos que após a reperfusão do enxerto houve redução da liberação de citocinas, mas sem influência sobre radicais livres e estresse oxidativo.

O presente estudo apresenta algumas limitações, e a extrapolação destes resultados para um cenário clínico deve ser feita com cautela. É um modelo animal com amostra reduzida que utilizou indução de morte encefálica através de um aumento da pressão intracraniana, o que nem sempre ocorre com os potenciais doadores, onde há uma elevação lenta e gradual desta até o estabelecimento definitivo do evento. Talvez um modelo de elevação gradual da pressão intracraniana fosse mais adequado. Além disso, o intervalo entre o estabelecimento da morte encefálica e a retirada do pulmão ocorreu de forma mais rápida que na prática clínica. Nosso estudo procurou reduzir todos os potenciais fatores de confusão relacionados com o tempo de preservação e com a deterioração da função pulmonar devido à ventilação mecânica após morte encefálica.

Sugerimos que a administração de metilprednisolona em potenciais doadores de múltiplos órgãos possa servir como uma estratégia para redução dos efeitos deletérios causados pela reperfusão após o transplante pulmonar. Estimulamos que mais estudos com animais de maior porte e modelos mais representativos dos cenários clínicos reais, como período mais longo de morte encefálica e elevação gradual da pressão intracraniana, sejam necessários para confirmar os efeitos benéficos dessa opção terapêutica.