

**GUSTAVO PILOTTO DOMINGUES SÁ**

**ANÁLISE DAS MÚLTIPLAS VARIÁVEIS RELACIONADAS COM O  
DOADOR DE ÓRGÃOS CADÁVER E OS PROCESSOS DE CAPTAÇÃO E  
ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS**

Tese apresentada à Universidade Federal  
de São Paulo para obtenção do Título de  
Mestre em Ciências

Orientador:  
Prof. Dr. Adriano Miziara Gonzalez

Co-orientador:  
Prof. Dr. Thiago Rennó dos Mares  
Guia

São Paulo  
2009

Pilotto, Gustavo Domingues Sá  
**Análise das múltiplas variáveis relacionadas com o doador de órgãos cadáver e os processos de captação e isolamento de ilhotas pancreáticas**/Gustavo Pilotto Domingues Sá.-- São Paulo, 2009.  
xiii,66p

Tese Mestrado – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia Cirúrgica.

Título em Inglês: Analysis of multiples variables related to the cadaveric organ donor and the pancreatic islet isolation process.

1.Transplante das ilhotas pancreáticas. 2.Ilhotas pancreáticas. 3.Obtenção de tecidos e órgãos. 4.Diabetes Mellitus tipo 1. 5.Índice de massa corporal

**GUSTAVO PILOTTO DOMINGUES SÁ**

ANÁLISE DAS MÚLTIPLAS VARIÁVEIS RELACIONADAS COM O  
DOADOR DE ÓRGÃOS CADÁVER E OS PROCESSOS DE CAPTAÇÃO E  
ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS

Tese apresentada à Universidade  
Federal de São Paulo para obtenção  
do Título de Mestre em Ciências

Orientador:  
Prof. Dr. Adriano Miziara  
Gonzalez

Co-orientador:  
Prof. Dr. Thiago Rennó dos Mares  
Guia

São Paulo  
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
GASTROENTEROLOGIA CIRÚRGICA

**Chefe do Departamento de Cirurgia**

Prof. Dr. Lydia Masako Ferreira

**Chefe da Disciplina de Gastroenterologia Cirúrgica**

Prof. Dr. Gaspar de Jesus Lopes Filho

**Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia Cirúrgica**

Prof. Dr. Delcio Matos

**Gustavo Pilotto Domingues Sá**

ANÁLISE DAS MÚLTIPLAS VARIÁVEIS RELACIONADAS  
COM O DOADOR DE ÓRGÃOS CADÁVER E OS  
PROCESSOS DE CAPTAÇÃO E ISOLAMENTO DE  
ILHOTAS PANCREÁTICAS

**Presidente da Banca:** Prof. Dr. Adriano Miziara Gonzalez

Banca Examinadora

Prof. Dr. Gaspar Jesus Lopes Filho

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Irene de Lourdes Noronha

Prof. Dr. Adávio de Oliveira e Silva

Aprovado em 25/11/2009

“As coisas só são previsíveis quando já aconteceram”

Conselheiro Ayres - Machado de Assis

## Dedicatória

A minha mãe, **Maria Helena**, pela dedicação eterna e amor infinito.

Ao meu pai, **André**, por estar presente sempre que preciso.

Ao meu padrasto e amigo, **Paulinho**, pelas lições diárias de caráter e integridade.

À minha irmã, **Mariana Pilotto**, por ser minha melhor amiga.

À **Mariana Armentano**, pelo carinho, compreensão, paciência e apoio na etapa final de desenvolvimento da tese.

Obrigado!

## Dedicatória

Ao Prof. Dr. **Adriano Miziara Gonzalez**. Agradeço pela oportunidade inesperada, pela confiança e pela amizade. Mudaram o rumo da minha vida médica. Obrigado!

## Agradecimentos

Ao Prof. Dr. **Thiago Rennó dos Mares Guia** e a equipe do **NUCEL**, que possibilitaram a realização deste sonho.

Ao Prof. Dr. **Delcio Matos**, pela dedicação inabalável ao ensino.

À minha tia Prof. Dr. **Regina Pilotto** e meu tio **Mauro Pilotto** pelo carinho e pela revisão detalhada do texto final.

À Prof. **Creusa Maria Roveri Dal Bó**, mestre em estatística pela UNICAMP, pela competência e pela paciência.

À **Paola de Souza Mandalá**, Bacharel e Licenciada em Letras pela USP, pela celeridade.

À equipe **CETEFI**, que me abriu as portas de São Paulo e do universo dos transplantes.

Ao aluno **Elton Onari**, pela colaboração na busca de artigos e confecção do texto.

Aos meus **colegas** de Pós-Graduação.

Aos **doadores** de órgãos.

Ao meu amigo e irmão **Guilherme** por ter me tirado diversas vezes da frente do computador, retardando consideravelmente a conclusão desta tese.

## SUMÁRIO

<b>Lista de Figuras.....</b>	<b>x</b>
<b>Lista de Quadros.....</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de Tabelas.....</b>	<b>xii</b>
<b>Lista de Abreviaturas e Símbolos.....</b>	<b>xiii</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>xiv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO.....</b>	<b>7</b>
<b>3. CASUÍSTICA E MÉTODO.....</b>	<b>10</b>
3.a ESCOLHA DO DOADOR.....	11
3.b CAPTAÇÃO DO PÂNCREAS PARA ISOLAMENTO DE ILHOTAS.....	11
3.b.1 <i>Perfusão e Retirada do Órgão.....</i>	13
3.b.2 <i>Isolamento das Ilhotas.....</i>	16
3.c COLETA E ANÁLISE DOS DADOS.....	22
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>25</b>
4.1 FASE I.....	26
4.2 FASE II.....	26
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
5.1 CONTEXTO HISTÓRICO.....	31
5.2 MOTIVAÇÃO.....	35
5.3 RESULTADOS.....	37
5.4 AMOSTRAGEM.....	40
5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>44</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>46</b>
7.1 Anexo 1 – BANCO DE DADOS UTILIZADO NO ESTUDO .....	47
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>Abstract</b>	
<b>Apêndices</b>	
<b>Bibliografia Consultada</b>	

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	CAPTAÇÃO DE ÓRGÃOS.....	13
Figura 2	<i>TWO-LAYER METHOD</i> .....	15
Figura 3	CANULAÇÃO E PERFUSÃO.....	16
Figura 4	DIGESTÃO.....	17
Figura 5	PURIFICAÇÃO.....	18
Figura 6	ASPECTO MICROSCÓPICO DAS ILHOTAS AO LONGO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO.....	19
Figura 7	<i>LABORATÓRIO DE ISOLAMENTO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS</i> .....	22
Figura 8	CURVA ROC.....	29
Figura 9	GRÁFICO APRESENTANDO O NÚMERO DE TRANSPLANTES DE ILHOTAS PANCREÁTICAS REALIZADOS PELO MUNDO NO PERÍODO DE 1974 a 2000.....	32

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	CRITÉRIOS DE SELEÇÃO PARA DOADORES DE ILHOTAS PANCREÁTICAS .....	11
Quadro 2	CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DO PÂNCREAS OFERTADO PARA ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS .....	12
Quadro 3	FATORES ENVOLVIDOS COM O TRANSPLANTE DE ILHOTAS PANCREÁTICAS ESTUDADOS .....	23
Quadro 4	VARIÁVEIS IDENTIFICADAS COMO FATORES PREDITORES DE SUCESSO NO ISOLAMENTO DE ILHOTAS .....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	DADOS DOS DOADORES DE PÂNCREAS PARA ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS.....	10
Tabela 2	RESULTADOS DA ANÁLISE UNIVARIADA .....	27
Tabela 3	RESULTADOS DA ANÁLISE MULTIVARIADA .....	28
Tabela 4	ÍNDICES DE EFICÁCIA .....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABTO	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
Curva ROC	<i>Relative Operating Characteristic Curve</i>
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
DTZ	Difeniltiocarbazona
EUA	Estados Unidos da América
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FDA	<i>Food Drug Administration</i>
FINEP	Financiadora de Estudos e Projetos
GMP	Boas Práticas de Fabricação
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HIV	<i>Human Immunodeficiency Vírus</i>
HTLV	<i>Human T Lymphotropic Vírus</i>
IEq	Equivalente de Ilhotas ( <i>Islet Equivalent</i> )
IMC	Índice de Massa Corpórea
Kg	Quilograma
mg	miligrama
mL	mililitro
NUCEL	Núcleo de Terapia Celular e Molecular
PFC	Perfluorocarbono
RJ	Rio de Janeiro
TIP	Transplante de Ilhotas Pancreáticas
TPOT	Transplante de Pâncreas Órgão Total
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
UW	Solução de Preservação da Universidade de Wisconsin – <i>Belzer</i>
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
Zn <sup>2+</sup>	Zinco
µm	Micrômetro

**RESUMO**

A carência de doadores de órgãos em relação à demanda e a priorização para a doação do pâncreas para transplante de órgão total tornaram-se obstáculos à obtenção de órgãos para isolamentos de ilhotas pancreáticas tanto para pesquisa quanto para a realização dos transplantes de ilhotas. Poucos estudos avaliaram se existem características relacionadas aos doadores e a algumas etapas do processo de isolamento que possam ser fatores determinantes para um melhor isolamento de ilhotas pancreáticas. **Objetivo:** Analisar a relação entre as múltiplas variáveis relacionadas ao doador e ao processo de captação/isolamento de ilhotas com o número total de equivalente de ilhotas (IEq) pancreáticas isoladas. **Método:** Foram analisadas múltiplas variáveis em 74 isolamentos de ilhotas em relação ao número final de IEqs: idade, sexo, IMC, tempo de UTI, utilização de drogas vasoativas, tabagismo, HAS, DM em parentes de primeiro grau, tipo sanguíneo, glicemia, uréia, creatinina, ALT, AST, amilase, peso e aspecto do pâncreas, aspecto do pâncreas durante a captação, tempo de isquemia e lote da enzima utilizada na digestão do pâncreas. **Resultados:** Na análise univariada, o IMC ( $p < 0,01$ ) e o aspecto macroscópico do pâncreas durante a captação ( $p = 0,04$ ) foram as variáveis relacionadas com um maior número de IEq. Para a regressão linear multivariada, a única variável que se mostrou com relevância estatística foi o IMC ( $p = 0,0003$ ). Através da construção de uma curva ROC, o IMC = 30 apresentou-se como ponto de corte onde pâncreas de doadores com IMC > 30 produzem mais ilhotas do que doadores com IMC < 30 ( $p < 0,001$ ). **Conclusão:** O IMC do doador cadáver de pâncreas se apresentou como única variável estatisticamente significativa. O doador com IMC > 30 tem maior possibilidade de proporcionar um melhor isolamento de ilhotas pancreáticas.

## **1. Introdução**

## 1. Introdução

Os primeiros estudos acerca do transplante de tecido pancreático datam do final do século XIX, quando Minkowski descreveu, em 1891, a implantação subcutânea de tecido pancreático autólogo em cães pancreatectomizados.<sup>1</sup> Dois anos depois, Sir Williams realizou o primeiro transplante de tecido pancreático retirado de um ovino e aplicado, com injeção subcutânea, em um paciente de 15 anos que apresentava cetoacidose diabética.<sup>2</sup> Esse paciente sobreviveu por apenas três dias. Apesar desses estudos iniciais, somente em 1924 foi publicado o primeiro artigo científico sobre o experimento de transplante de fragmentos pancreáticos de um cadáver humano realizado por Pybus.<sup>3</sup>

Com o advento da insulina em 1922<sup>4</sup> e a eficácia cada vez maior de sua utilização para controle da glicemia em pacientes portadores de diabetes melitus tipo 1 (DM1), as pesquisas relacionadas ao transplante de tecido pancreático foram reduzidas. Entretanto, o sucesso na utilização da insulina transformou a diabetes em uma doença crônica, com diversas complicações em longo prazo. Além disso, 5 - 10% dos diabéticos em uso de insulina têm dificuldade de se manterem euglicêmicos, apresentando episódios de hiperglicemia ou hipoglicemia frequentes, por vezes necessitando de internação hospitalar, apesar da utilização correta do medicamento. Essa forma de diabetes foi denominada hiperlábil ou *brittle*, e identificou uma população de pacientes que não conseguia manter uma boa qualidade de vida, inclusive apresentando complicações tardias mais precocemente, além de mortalidade até 16 vezes maior em relação àqueles com controle glicêmico satisfatório.<sup>5,6</sup>

Para este grupo selecionado de pacientes, surgem, como forma mais eficiente de tratamento, o transplante de pâncreas órgão total e a terapia celular com infusão de ilhotas pancreáticas.

Assim, na década de 1970, ressurgiu o interesse pelas pesquisas em transplante de tecido pancreático para tratamento definitivo da diabetes.<sup>7,8,9</sup>

A primeira tentativa de isolar ilhotas pancreáticas puras foi realizada por Moskalewski no final da década de 1960.<sup>7</sup> Contudo, Ballinger e Lacy foram os primeiros a conseguir implantar um enxerto de ilhotas intactas em roedores<sup>8</sup> e em 1973, Kemp e col. infundiram ilhotas com alocação intra-hepática<sup>9</sup>. Ambos apresentaram resultados metabólicos notáveis.

Em 1977, Najarian e col. realizaram a primeira infusão intraperitoneal de ilhotas em um paciente, produzindo redução de glicemia.<sup>10</sup> Em 1989, Sharp e col. conseguiram realizar o primeiro transplante de ilhotas de Langerhans tornando um paciente diabético independente de insulina.<sup>11</sup> Todavia, de acordo com o *Islet Transplant Registry*, dos 267 pacientes que assim foram conduzidos entre 1990 e 1998, apenas 12,4% não precisaram mais da utilização do hormônio por uma semana, e somente 8,2% por um ano.<sup>12</sup>

Durante a década de 1990, muitos avanços foram observados na área de purificação, transporte e transplante de ilhotas. Bretzel e col., em Giessen, publicaram um estudo animador em 1999, cujos resultados demonstraram que 25% dos seus pacientes mantiveram insulino-independência por mais de um ano utilizando somente as ilhotas de um único doador.<sup>13</sup>

No ano 2000, Shapiro e col. apresentaram o protocolo de Edmonton, no qual, sete pacientes DM1, submetidos ao transplante de ilhotas pancreáticas (TIP), mantiveram-se, durante um ano de acompanhamento, euglicêmicos e livres de insulina, sendo considerado um marco nesse universo. O protocolo se baseia: **(1)** na seleção de pacientes DM1, com peptídeo C negativo, candidatos a TIP antes da falência renal, que sofram de hipoglicemia severa ou diabetes hiperlável; **(2)** no protocolo de imunossupressão com Dacluzimab, Sirolimus e Tacrolimus, mas sem utilização de glicocorticóides; **(3)** no preparo das ilhotas utilizando albumina humana; **(4)** na contagem de aproximadamente 10000 Equivalente de Ilhotas (IEq) por quilograma (kg) de peso do receptor, administradas em infusões

sequenciais, utilizando-se 2 a 4 doadores.<sup>14</sup> Após o estabelecimento do protocolo de Edmonton, diversos centros adotaram o seu uso para a realização do transplante de ilhotas.

Em 2006, foi publicado um estudo multicêntrico baseado no protocolo de Edmonton, em que 36 pacientes com DM1 foram submetidos ao TIP. Desses, dezesseis (44%) permaneceram euglicêmicos e independentes de insulina após o primeiro ano, e apenas 5 (18%) após 2 anos. Porém, apesar de na maioria dos casos ter sido necessária a reintrodução da insulina para o tratamento da hiperglicemia, a persistência da função secretora das ilhotas implantadas pôde ser determinada pela presença de peptídeo C detectável em mais de 80% dos pacientes após cinco anos. Desta forma, mesmo que insuficiente para promover um estado de euglicemia, a técnica se mostrou, em longo prazo, como protetora contra episódios severos de hipoglicemia, propiciando assim controle glicêmico mais eficaz e melhores níveis de hemoglobina glicosilada.<sup>15</sup>

Todavia, essa modalidade terapêutica encontrou limitações para que fosse empregado em larga escala, pois exigia para tal a obtenção de múltiplos doadores tornando-se um problema devido à escassez de doadores de órgãos em relação à demanda, principalmente quando comparado com o transplante de pâncreas órgão total (TPOT).

O TPOT é um procedimento bem estabelecido, com resultados satisfatórios em longo prazo, e que utiliza apenas um doador para promover a insulino-independência. No entanto, apresenta custo mais elevado e maior morbimortalidade quando comparado ao TIP.<sup>16-20</sup>

No entanto, alguns estudos alcançaram bons resultados no transplante de ilhotas com apenas um doador. Hering e col. publicaram, em 2005, um estudo no qual

oito pacientes foram submetidos ao TIP utilizando o pâncreas de um único doador para cada um dos receptores que se mantiveram insulino-independentes por um ano.<sup>21</sup> Ainda em 2005, pesquisadores do hospital da Universidade de Kyoto, Japão, publicaram o sucesso do transplante de ilhotas utilizando doador vivo.<sup>22</sup>

Apesar dessas evoluções técnicas, apenas no Canadá o TIP é considerado como um tratamento efetivo para casos selecionados de DM1, enquanto no resto do mundo apresenta-se como uma terapia experimental e, como tal, enfrenta uma série de dificuldades, principalmente no que diz respeito à utilização de pâncreas de boa qualidade, uma vez que a doação é prioritária para a realização de TPOT, ficando reservados para os protocolos de terapia com ilhotas aqueles órgãos rejeitados para órgão sólido.

No Brasil, em 2002, foi iniciado o protocolo de pesquisa registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) como *Transplante de Ilhotas Pancreáticas Humanas em Pacientes Portadores de Diabetes Mellitus*.

A partir de então, dezenas de isolamentos de ilhotas pancreáticas de doadores cadáveres foram realizadas no Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL) da Universidade de São Paulo com a finalidade de pesquisa e aperfeiçoamento da técnica, que envolve um complexo processo de captação, isolamento e purificação das ilhotas pancreáticas, com múltiplos fatores estando envolvidos no sucesso do procedimento, mensurado ao final do processo em IEq.<sup>23-29</sup>

Na tentativa de melhorar a qualidade dos doadores oferecidos aos protocolos de ilhotas pancreáticas, realizou-se reunião entre os grupos transplantadores de pâncreas, no Congresso Brasileiro de Transplantes de Órgãos do Aparelho Digestivo (Búzios-RJ/2008), sendo proposto que os pâncreas de doadores com índice de massa corpórea (IMC) maior que 30 fossem primeiramente oferecidos aos protocolos para isolamento de ilhotas. Na atualidade, os pâncreas de doadores que pesam mais de 90 kg são oferecidos prioritariamente para esse fim.

Na maioria dos estudos internacionais, o IMC é identificado como fator preditivo relacionadas a um melhor resultado no isolamento das ilhotas pancreáticas. No entanto, diversas outras variáveis são citadas<sup>23-29</sup>, dependendo do centro de onde foram obtidos os dados. A ausência de estudos, em nosso meio, que relacionem essas características com um melhor aproveitamento e que, conseqüentemente, proporcionem uma seleção mais adequada de doadores para o transplante de ilhotas pancreáticas estimulou a realização deste estudo.

## **2. Objetivo**

## **2. Objetivo**

Analisar estatisticamente as múltiplas variáveis relacionadas ao doador de órgãos, à captação do pâncreas e ao isolamento de ilhotas pancreáticas, de modo a identificar fatores associados com um bom rendimento de IEq obtidos ao final do processo.

### **3. Casuística e Método**

### 3. Casuística e Método

No período de 9 de janeiro de 2004 a 21 de fevereiro de 2008 foram oferecidos pela Central de Transplantes, entidade responsável pela distribuição de órgãos do Estado de São Paulo, 263 pâncreas para isolamento de ilhotas pancreáticas. Destes, 171 foram recusados pela equipe por não preencherem os critérios de escolha ou terem contra-indicações como as citadas adiante. Noventa e dois pâncreas foram aceitos, captados pela equipe cirúrgica e encaminhados ao NUCEL para digestão e purificação conforme métodos padronizados, tendo como base o protocolo de Edmonton.<sup>12</sup> Destes, apenas 74 foram incluídos no estudo (**Tabela 1**). O objetivo final do processo foi isolar o maior número de IEq de cada pâncreas captado. (**Anexo 1**)

**Tabela 1: DADOS DOS DOADORES DE PÂNCREAS PARA ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS**

IDADE (anos)		
MÉDIA	mínima	máxima
43,9	8	58

IMC <sup>a</sup> (Kg/m <sup>2</sup> )		
MÉDIA	mínimo	máximo
26,3	18	39

a – índice de massa corporal

GÊNERO	
masculino	feminino
23	51

### 3.a Escolha do Doador

Os critérios utilizados para escolha do doador de órgão cadáver para o isolamento de ilhotas pancreáticas estão relacionados a seguir (**Quadro 1**):

#### Quadro 1: CRITÉRIOS DE SELEÇÃO PARA DOADORES DE ILHOTAS PANCREÁTICAS

- Diagnóstico confirmado de morte cerebral
- Autorização para doação de órgãos
- Idade entre 18 – 60 anos
- Não-diabético
- Estabilidade hemodinâmica
- Perfusão e oxigenação adequadas
- Ausência de neoplasias
- Ausência de doenças transmissíveis

Os critérios que contra-indicam a utilização do órgão para isolamento de ilhotas estão descritos a seguir. Note, no entanto, que para pesquisa são utilizados critérios menos rigorosos (**Quadro 2**).

### 3.b Captação do Pâncreas para Isolamento de Ilhotas

O processo de captação é dividido em dois momentos: perfusão e retirada do órgão, e preparo do órgão na mesa.

**Quadro 2: CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DO PÂNCREAS OFERTADO PARA ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS**

- Diabetes mellitus no doador
- IMC < 24 (*Para pesquisa: aceitar IMC < 24*)
- Idade menor do que 18 anos e maior do que 60 anos (*Para pesquisa: aceitar doador entre 0 e 5 anos e acima de 60 anos*)
- Tempo de isquemia fria > 12 horas (*Para pesquisa: aceitável até 20 h se conservado com UW+PFC*)
- História de pancreatite crônica prévia, recém-diagnosticada ou trauma pancreático
- Valores de amilase > 400 U/L
- Etilismo crônico
- Hiperglicemia > 200mg/dL por todo o período de hospitalização (*para pesquisa não é necessário*)
- Sepses
- Soropositividade para hepatite viral B ou C
- VDRL positivo
- HTLV-I ou HTLV-II positivo
- HIV-1 ou HIV-2 positivo
- Soropositividade para Chagas
- Usuários de drogas ilícitas nos últimos 5 anos
- Hemodiluição, hemofílicos ou pacientes com outros distúrbios de coagulação que tenham recebido concentrados de fatores de coagulação humanos

UW: Solução de preservação – Belzer

PFC: perfluorocarbono

### 3.b.1 Perfusão e Retirada do Órgão

A cirurgia para retirada dos órgãos é bem estabelecida e segue os passos determinados pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos – ABTO. Inicia-se pela incisão mediana esternopubiana com exposição dos órgãos torácicos e abdominais (**Figura 1**).

#### **Figura 1 – CAPTAÇÃO DE ÓRGÃOS**



Figura 1 - Incisão esternopubiana com exposição dos órgãos torácicos e abdominais durante captação de órgãos de doadores cadáveres.

Avalia-se, então, o aspecto e consistência do pâncreas, bem como a presença de calcificações, tumorações ou outras patologias que contra-indiquem a utilização do órgão.

Prosseguem-se os passos da captação de órgãos com a canulação da artéria aorta abdominal e veia porta, reperfusão com líquido de preservação e retirada dos órgãos pelas respectivas equipes. Para o transplante de ilhotas em seres humanos, utiliza-se a solução de UW – Belzer (Bristol-Myers Squibb, New Jersey, EUA) para a perfusão do órgãos. Diferentemente da captação do pâncreas para transplante de órgão total, onde ocorrerá o implante cirúrgico no paciente receptor, não existe a necessidade de preservação das estruturas vasculares e do duodeno, uma vez que o interesse é exclusivamente pelo parênquima. No entanto, é importante a manutenção da integridade da cápsula pancreática para que não ocorram vazamentos durante o processo de digestão e isolamento das ilhotas pancreáticas no laboratório.

A cirurgia de mesa é realizada logo após a retirada do órgão e necessita estar previamente preparada para que não ocorra aumento no tempo de isquemia fria. Neste procedimento, o pâncreas é imerso sequencialmente em soluções geladas, preparadas em cubas contendo 100 ml de povidine tópico, 10 mg de decadron, 80 mg de gentamicina e 50 mg de anfotericina B. A seguir, o órgão é mantido imerso em solução de Belzer gelada. É realizada a limpeza cuidadosa do pâncreas com a retirada de todos os tecidos não pancreáticos como vasos, ducto colédoco, além dos tecidos gorduroso e conjuntivo.

Finalmente, o órgão é colocado em um frasco onde será mantido imerso em uma solução contendo 300 ml de Belzer gelado (*Two-layer method*)<sup>87</sup> e 200 ml de perfluorocarbono (PFC) (*FluoroMed, L.P., Texas, EUA*), previamente oxigenado por 30 minutos. Devido à diferença de densidade, os dois líquidos não se misturam, e o pâncreas deve ser mantido imerso em contato com as duas substâncias, sendo sustentado nesta posição pela colocação de uma tela metálica fenestrada (**Figura 2**). O frasco é fechado e embalado em sacos estéreis, colocado em uma caixa térmica, repleta de gelo, que é então lacrada e enviada ao laboratório do NUCEL.

**Figura 2 – TWO-LAYER METHOD<sup>87</sup>**

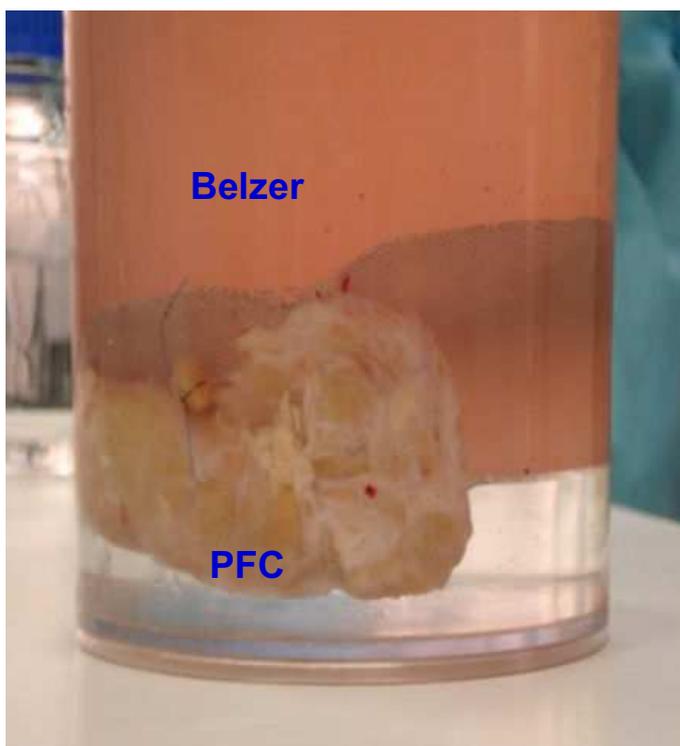


Figura 2 – Pâncreas captado preparado para ser transportado ao laboratório, imerso na solução de perfluorocarbono (PFC) e Belzer (*Two layer method*)

### 3.b.2 Isolamento das ilhotas

Os isolamentos de ilhotas são realizados com base no método descrito por Linetsky e colaboradores em 1997 <sup>30</sup>, um procedimento longo que dura cerca de 8-12 horas e altamente especializado. O pâncreas passa por uma primeira etapa de canulação e distensão (**Figuras 3**), com o objetivo de infundir no ducto de Wirsung a mistura enzimática (Serva collagenase, Serva, Heidelberg, Alemanha).

#### Figura 3 – CANULAÇÃO E PERFUSÃO

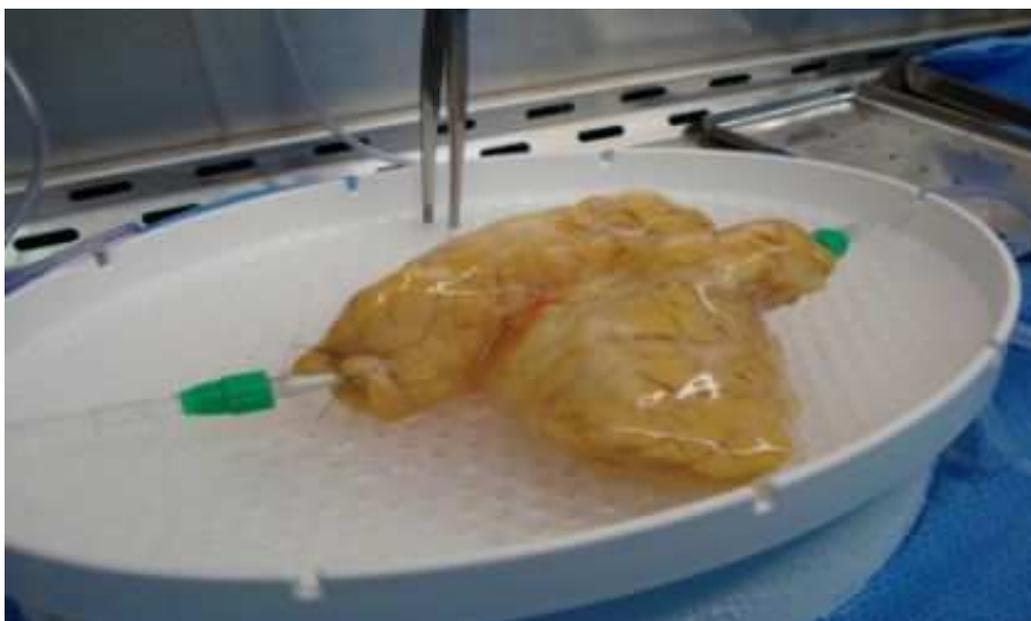


Figura 3 – Pâncreas seccionado no laboratório, com infusão da mistura enzimática através de cateterização do ducto de Wirsung.

O pâncreas é então seccionado em 8 fragmentos que são colocados em uma câmara de digestão (câmara de Ricordi), preenchida com solução enzimática aquecida a cerca de 30-34°C e agitada gentilmente durante tempo suficiente para que as ilhotas se dissociem do tecido acinar (**Figura 4**).

**Figura 4 – DIGESTÃO**



Figura 4 – Câmara de Ricordi – Recipiente contendo solução enzimática aquecida onde o pâncreas é agitado manualmente para digestão e liberação das ilhotas pancreáticas.

O material resultante da digestão é submetido à purificação com gradiente de Ficoll (*Biochrom AG, Berlim, Alemanha*) por centrifugação, utilizando o processador de células COBE 2991 (*Gambro Laboratories, Denver, CO*) (**Figura 5**).

### Figura 5 – PURIFICAÇÃO

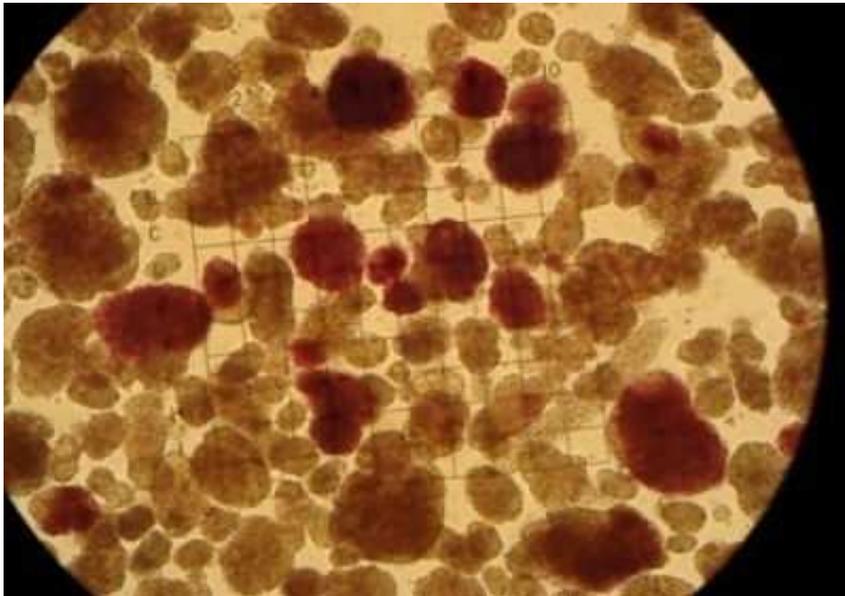


Figura 5 – Processo de centrifugação (COBE 2991) para isolamento das ilhotas pancreáticas.

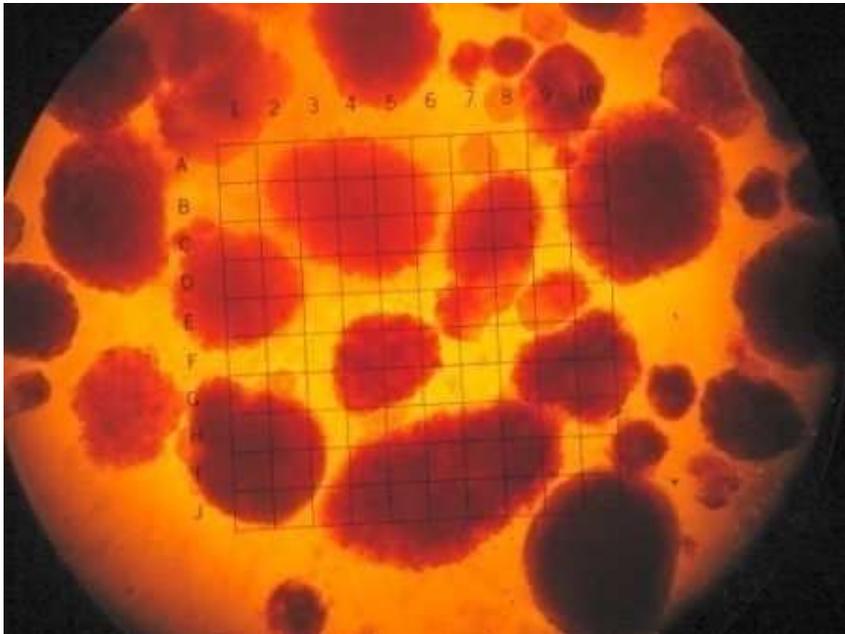
Este procedimento é necessário para separar as ilhotas do tecido acinar. Nesta etapa separa-se uma fração pura, contendo ilhotas totalmente livres dos ácinos (**Figura 6B**), e uma fração impura, contendo ilhotas ainda parcialmente envoltas pelo tecido acinar (**Figura 6A**). Uma pequena amostra de cada fração pura e impura é submetida à coloração com difeniltiocarbazona (DTZ), que cora o  $Zn^{2+}$  nas células  $\beta$  das ilhotas, onde este se encontra complexado à insulina.

**Figura 6 – ASPECTO MICROSCÓPICO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS AO LONGO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO**

**A**



**B**



Fotografias ao microscópio ótico (aumento de 100x)

A – Aspecto microscópico das ilhotas impuras

B – Aspecto após purificação

As ilhotas são contadas em microscópio ótico e os resultados são expressos em IEq. O valor IEq reflete o rendimento de ilhotas como o número total de equivalentes de ilhotas com pureza maior que 80%. O termo IEq é definido como o volume de uma ilhota com dimensão padrão de 150  $\mu\text{m}$  de diâmetro.<sup>31</sup> Após a purificação são determinados: o número de IEq e pureza da preparação através da coloração por DTZ e a viabilidade por incorporação dos corantes laranja de acridina (células vivas) e iodeto de propídeo (células mortas).

Também são realizados diversos outros testes funcionais, microbiológicos e de endotoxina para garantir a qualidade da preparação. Após a contagem, as frações pura e impura são cultivadas em meio de cultura específico, por no mínimo 24 horas. A fração pura é encaminhada para o transplante de ilhotas ou para a pesquisa. A fração impura é sempre utilizada em pesquisa.

No NUCEL, todas as etapas do isolamento e purificação das ilhotas pancreáticas humanas a partir de pâncreas de um doador cadáver são realizadas dentro de cabines ISO Classe 5, que por sua vez estão localizadas em uma Sala Limpa ISO Classe 7, construída única e exclusivamente com esse objetivo, procurando atender as Boas Práticas de Fabricação ( do inglês *good manufacturing practices* - GMP) vigentes no Brasil e a regulamentação específica para a área de Terapia Celular, aplicada pelo *Food Drug Administration* (FDA), EUA (**Figura 7**).

**Figura 7 – LABORATÓRIO DE ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS**



**Figura 7 - Sala Limpa ISO Classe 7**

### 3.c Coleta e Análise dos Dados

Todos os dados relacionados ao processo de isolamento de ilhotas são armazenados de forma prospectiva em um banco de dados originado a partir do protocolo de pesquisa iniciado em 2002, registrado no CONEP como *Transplante de Ilhotas Pancreáticas Humanas em Pacientes Portadores de Diabetes Mellitus do Tipo 1 Hiperlábil*. Este projeto conta com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Programa de Inovação Tecnológica, Proc. No. 99/06460-4) e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) (Proc. No. 1433/03 do edital Terapia Celular), que financiaram a implantação do NUCEL e a consolidação do procedimento de implante celular na terapia de doenças degenerativas. O banco de dados contém múltiplas variáveis referentes tanto aos doadores quanto ao processo de isolamento e purificação das ilhotas. Procuramos estabelecer alguma relação entre as variáveis identificadas e o resultado final na contagem total de IEq isolados. As variáveis estudadas são: (1) Relacionadas ao doador: idade, sexo, IMC, tempo de UTI, utilização de drogas vasoativas, tabagismo, HAS, Diabetes em parentes de 1º grau e tipo sanguíneo. (2) Resultados laboratoriais do doador: glicemia, uréia, creatinina, ALT, AST, amilase. (3) Relacionados ao processo de captação e isolamento das ilhotas: peso do pâncreas, aspecto do pâncreas durante a captação (gorduroso ou endurecido), tempo de isquemia, lote da enzima utilizada na digestão do pâncreas e aspecto do pâncreas durante processo de isolamento (**Quadro 3**).

**Quadro 3 – FATORES ENVOLVIDOS NOS ISOLAMENTOS DE ILHOTAS PANCREÁTICAS ESTUDADOS**

Dados do Doador	Resultados Laboratoriais	Dados do Isolamento
Idade	Glicemia	Peso do Pâncreas
Sexo	Uréia	Aspecto do Pâncreas
IMC	Creatinina	Tempo de Isquemia
Tempo de UTI	AST	Lote da Enzima
Tipo Sanguíneo	ALT	
Tabagismo	Amilase	
DM em parentes de 1º grau		
HAS		
Utilização de Drogas Vasoativas		

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as quantitativas esta análise foi feita por meio da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias, desvio-padrão e mediana. Para as qualitativas calcularam-se freqüências absolutas e relativas. Para a comparação de dois grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada. Para a comparação de três ou mais grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada. Para o estudo da correlação entre duas variáveis foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%. A análise multivariada destes dados foi realizada através do modelo de regressão linear multivariado. Para isso selecionamos as variáveis que apresentaram associação na análise univariada com a contagem com  $p < 0,10$ . Foi ajustado um modelo de regressão linear, depois aplicamos um processo de seleção “stepwise” para obter o melhor modelo.<sup>32</sup>

Uma vez identificada(s) a(s) variável(eis) com significância estatística, aprofundaram-se as análises. Foi determinado como valor para um bom isolamento aqueles com 200 mil IEq ou mais. Para identificar o melhor ponto de corte utilizamos a curva ROC e determinou-se, como teste de fator de risco para um bom isolamento ( $> 200$  mil IEq), os valores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, odds ratio e intervalo de confiança para a(s) variável(eis) identificada(s) na regressão linear <sup>32</sup>.

## **4. Resultados**

## 4. Resultados

### 4.1 Fase I

A análise univariada apresentou significância estatística em dois fatores: Para o IMC foi encontrado  $p = 0,0034$ . A gordura macroscópica do pâncreas identificada pelo cirurgião no momento da captação, com  $p = 0,04$ , foi o outro fator analisado que se mostrou estatisticamente relevante (**Tabela 2**). Dados gerais se encontram nas tabelas em anexo.

Para a análise multivariada foram incluídas as variáveis com  $p < 0,10$ . Uso de dopamina ( $p = 0,069$ ), creatinina ( $p = 0,088$ ), tempo de isquemia ( $p = 0,078$ ), IMC e gordura do pâncreas (**Tabela 2**).

O IMC se apresentou como a única variável com significância estatística na regressão linear multivariada com  $p = 0,017$  (**Tabela 3**).

### 4.2 Fase II

Na segunda fase do estudo, os isolamentos foram divididos em dois grupos: **(A)** aqueles considerados bons isolamentos, ou seja, que produziram um número  $> 200$ mil IEq ( $n=15$ ) e **(B)**  $< 200$ mil IEq ( $n=59$ ). Compararam-se esses grupos com o IMC e os seguintes resultados foram obtidos:

Este teste apresentou acurácia de 83,7% e intervalo de confiança de 95%. A sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo foram respectivamente 53,5%, 91,5%, 61,5%, 88,5%. *Odds ratio* superior a 12 (**Tabela 4**).

**Tabela 2 – RESULTADOS DA ANÁLISE UNIVARIADA**

<b>Variável</b>	<b>p</b>
Sexo	0,9745
DM em parente de 1º grau	0,2118
HAS	0,9506
Tabagismo	0,4208
Uso de Noradrenalina	0,1308
Presença de Infecção	0,9346
<b>Gordura do Pâncreas (cirurgião)<sup>a</sup></b>	<b>0,0415</b>
Gordura do Pâncreas (isolamento) <sup>b</sup>	0,1204
<b>Tempo de Isquemia</b>	<b>0,0783</b>
<b>Uso de Dopamina</b>	<b>0,0692</b>
Tipo Sanguíneo	0,8947
Consistência do Pâncreas (cirurgião) <sup>a</sup>	0,1294
Consistência do Pâncreas (isolamento) <sup>b</sup>	0,1855
<b>Creatinina</b>	<b>0,0885</b>
Amilase	0,9640
AST	0,3239
ALT	0,3963
Peso do Pâncreas	0,1420
Distensão da Cabeça do Pâncreas	0,2579
Distensão do Corpo/Cauda	0,5373
Idade	0,1521
Dias de UTI	0,3035
<b>IMC</b>	<b>0,0034</b>
Glicose	0,2698
Lote da enzima	0,1925

**p < 0,05**    **p < 0,10**

a – Características identificadas pelo cirurgião no momento da captação do órgão.

b – Características identificadas pela equipe do isolamento no laboratório

**Tabela 3 – RESULTADOS DA ANÁLISE MULTIVARIADA**

Variável	<i>p</i>
<b>IMC</b>	<b>0,017</b>
Dopamina	0,412
Creatinina	0,677
Gordura do pâncreas (cir)	0,230
Tempo de Isquemia	0,199

***p* < 0,05**

A construção de uma curva ROC (**Figura 8**) sugeriu um ponto de corte em IMC = 30, com melhores resultados de isolamentos em pacientes com IMC > 30 ( $p < 0,001$ ), identificados através da regressão linear para variável dependente (número de IEq).

**Tabela 4 - ÍNDICES DE EFICÁCIA**

Sensibilidade	53,5%
Especificidade	91,5%
Valor Preditivo Positivo	61,5%
Valor Preditivo Negativo	88,5%
Acurácia	83,7%
<i>Odds Ratio</i>	12,343
Intervalo de Confiança	95%

Teste da relação entre IMC > 30 e Isolamentos de Ilhotas > 200 mil IEq

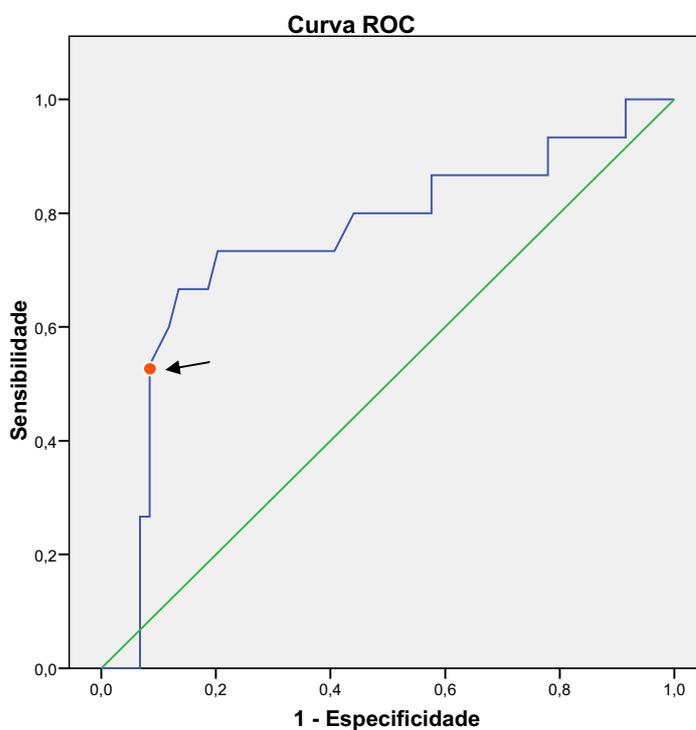
**Figura 8 – CURVA ROC**

Figura 8 - Curva ROC demonstrando ponto de corte no IMC de 30 onde foram obtidos os melhores índices de eficácia para este teste de IMC x número de IEq.

Doadores obesos, com IMC > 30, produziram uma média de 277964 IEq, enquanto doadores com IMC < 30 produziram 104874 IEq ( $p < 0,001$ ).

Apenas 11,5% dos pâncreas de doadores com IMC < 30 resultaram em um isolamento com mais de 200 mil IEq. Apenas 38,5% dos pâncreas de doadores com IMC > 30 resultaram em um isolamento com menos de 200 mil IEq.

Pâncreas de doadores com IMC > 30 tem chance 12 x maior de produzir uma contagem de ilhotas acima de 200 mil IEq.

## **5. Discussão**

## 5. Discussão

### 5.1 Contexto Histórico

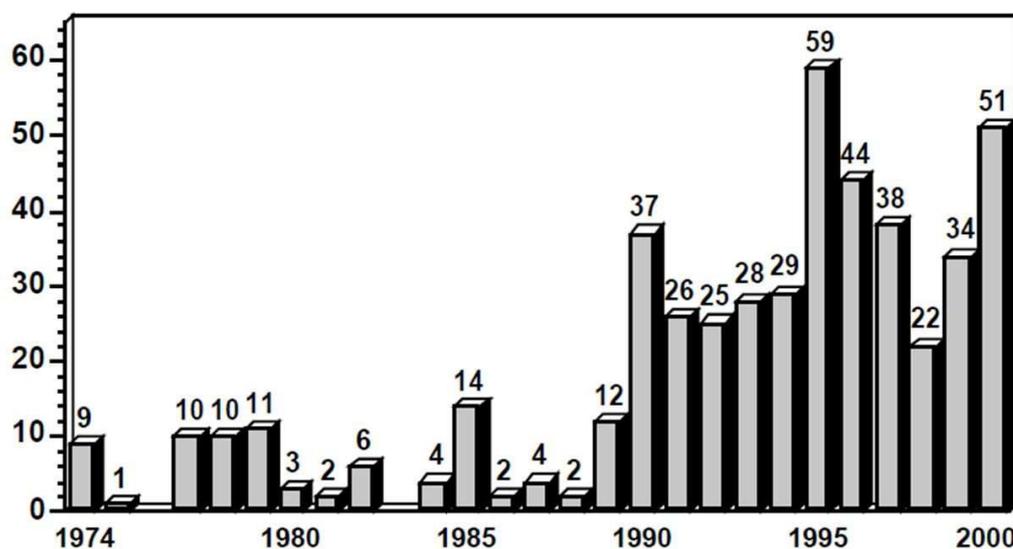
O Transplante de ilhotas pancreáticas foi visto inicialmente como uma forma promissora de tratamento definitivo para o DM1. O potencial de induzir a insulino-independência através da inoculação, em pacientes diabéticos, de células produtoras de insulina despertou, nas décadas de 1970 – 1980, o interesse de diversos centros de pesquisa ao redor do mundo. Estudos experimentais em animais começaram a demonstrar bons resultados, o que acabou por estimular os testes em seres humanos.<sup>8,9,33</sup>

Em 1974, na Universidade de Minnesota, foi realizado o primeiro TIP em humanos utilizando aloenxerto e foi iniciado um protocolo concluído em 1977. A utilização da imunossupressão com azatioprina e corticóides, bem como a precária técnica de isolamento de ilhotas, proporcionou péssimos resultados, com apenas poucos casos de efeito transitório do enxerto.<sup>10</sup>

Com o desenvolvimento dos estudos acerca do assunto e os relatos de acompanhamento de pacientes em médio e longo prazos, os pesquisadores se depararam com resultados, em sua maioria, insatisfatórios. O insucesso inicial do procedimento levou muitos grupos a diminuir os investimentos em pesquisas no TIP<sup>10, 34</sup> (**Figura 9**).

Este panorama começou a mudar no final da década de 1980, quando Ricordi e col. desenvolveram o método automatizado de isolamento de ilhotas. Com um melhor aproveitamento dos pâncreas e a geração de uma grande quantidade de ilhotas por procedimento, tornou-se viável a realização de estudos em maior escala.<sup>35, 36</sup>

**Figura 9 – GRÁFICO APRESENTANDO O NÚMERO DE TRANSPLANTES DE ILHOTAS PANCREÁTICAS REALIZADOS PELO MUNDO NO PERÍODO DE 1974 a 2000<sup>34</sup>**



A percepção sobre a necessidade de implantação de um esquema de imunossupressão livre de corticóides já havia sido sugerida por Ricordi e col. em 1992.<sup>36</sup> No entanto, foi o sucesso apresentado pela Universidade de Alberta que iniciou uma nova etapa na história do TIP. O protocolo implantado nos pacientes desse estudo se baseou na imunossupressão sem corticóides, na utilização de pâncreas de dois ou mais doadores para atingir aproximadamente 10.000 IEq por Kg de peso do receptor e obteve como resultado a insulino-independência por um ano em todos os pacientes acompanhados.<sup>14</sup>

Apesar de estudos subseqüentes não terem conseguido reproduzir os mesmos resultados quanto à insulino-independência no segmento dos pacientes transplantados em longo prazo, muitos demonstraram a manutenção de níveis elevados de peptídeo C no mesmo período, na grande maioria destes pacientes. Obtiveram melhora no controle glicêmico, mesmo com o retorno na utilização de insulina e diminuição significativa dos episódios de hipoglicemia assintomática,<sup>15,37-39,81</sup> com melhora na qualidade de vida.<sup>82,83</sup>

Mesmo após a ocorrência de falha completa do enxerto, caracterizado pelo peptídeo C negativo ( $<0.3$  ng/ml), os pacientes submetidos ao TIP apresentaram proteção contra episódios de hipoglicemia severa.<sup>84</sup>

Os resultados preliminares de um estudo prospectivo com 42 pacientes diabéticos em andamento na Universidade de British Columbia em Vancouver, Canadá, demonstram a melhora nos índices de hemoglobina glicosilada ( $p<0,01$ ) e a diminuição da progressão da retinopatia diabética ( $p<0,01$ ) no grupo submetido ao transplante de ilhotas em relação ao grupo em tratamento clínico intensivo para controle da diabetes em segmento por 3 anos.<sup>80</sup>

O maior obstáculo que se impõe diante dos centros transplantadores de todo o mundo é a escassez de órgãos disponíveis através de doadores com morte encefálica, em relação ao número de pacientes candidatos às diversas modalidades de transplante, inclusive os de pâncreas e ilhotas pancreáticas. Para aumentar a oferta de órgãos, formas alternativas de transplantes pancreáticos têm sido estudadas. A realização de transplante intervivos de pâncreas órgão e a utilização de doadores marginais, como aqueles sem batimentos cardíacos, tem sido adotadas em alguns centros de referência.<sup>40-42</sup>

Da mesma forma, diversas equipes de TIP têm se aprofundado em estudos utilizando fontes de pâncreas, além dos tradicionais doadores com morte encefálica, com o intuito de aumentar a disponibilidade de órgãos.

Estudos realizados em doadores sem batimentos cardíacos demonstraram a viabilidade do procedimento com resultados semelhantes aos obtidos com a utilização de doadores com morte encefálica.<sup>43-48</sup> Pesquisadores da Universidade da Pensilvânia obtiveram uma média de  $385085 \pm 78517$  IEq em 10 doadores sem batimentos cardíacos e realizaram o primeiro TIP com sucesso com doador em parada cardíaca.<sup>45</sup>

A importância da utilização de doadores com morte cardíaca é destacada em países orientais como o Japão, onde existe uma forte resistência cultural à utilização de doadores com morte encefálica. A Universidade de Kyoto atualmente apresenta a maior casuística nesta modalidade de transplante de ilhotas. Sete pacientes submetidos ao transplante com doadores sem batimentos cardíacos apresentam evolução satisfatória com acompanhamento após um ano. Todos estabilizaram o controle glicêmico com diminuição dos níveis de hemoglobina glicosilada e normalização dos níveis plasmáticos de peptídeo C. Três deles apresentavam insulino-independência na data da publicação do estudo.<sup>46-48</sup>

A despeito de todas as implicações éticas que envolvem o assunto, a utilização de doadores vivos para isolamento e TIP foi relatada. Em 2005, o mesmo grupo japonês apresentou ao mundo o primeiro transplante intervivos de ilhotas pancreáticas. A doadora foi uma mulher saudável de 56 anos que foi submetida à pancreatectomia corpo-caudal. O enxerto produziu, após o processo de digestão e isolamento, 408114 IEq que foram transplantadas em sua filha de 26 anos, portadora de DM1 hiperlábil há 15 anos. A doadora teve uma evolução pós-operatória sem intercorrências, retornando ao trabalho após um mês e a receptora permanece insulino-independente após um ano de seguimento.<sup>22, 49, 50</sup>

Paralelamente, a evolução nas técnicas de preservação e isolamento das ilhotas pancreáticas tem proporcionado um maior número de IEq por órgão processado, reduzindo, desta forma, o número de pâncreas necessário para se atingir o volume ideal de ilhotas para o sucesso do transplante.

Desde os primeiros isolamentos de ilhotas pancreáticas, ainda em modelos animais nos anos 60, tem sido registrada a complexidade do processo e dificuldade de obtenção de ilhotas de qualidade e com função preservada.<sup>51,52</sup> O processo de isolamento de ilhotas vem sendo progressivamente otimizado com a evolução da tecnologia envolvida em suas diversas etapas, entre elas o desenvolvimento das técnicas de isolamento, através da utilização dos métodos introduzidos por Ricordi e col.<sup>35,52-54</sup>, produção e pesquisa no desenvolvimento de melhores combinações enzimáticas para a digestão do pâncreas<sup>31,55-57</sup>, e

utilização de melhores métodos para a preservação do órgão durante a captação e o transporte para o laboratório, como o *two-layer method*.<sup>58-62</sup>

## 5.2 Motivação

Apesar das diversas alternativas para a captação de pâncreas e das evoluções na técnica de isolamento e digestão das ilhotas, a quantidade de órgãos é, ainda assim, muito menor que a demanda. Some-se a isso o fato de o transplante de ilhotas ser considerado experimental na maioria dos países do mundo e, portanto, os pâncreas disponíveis para transplante são, via de regra, oferecidos para TPOT, o que reduz consideravelmente a disponibilidade e a qualidade dos órgãos para o TIP.

O TPOT é um tratamento estabelecido e que apresenta bons resultados em longo prazo no controle glicêmico, principalmente quando associado ao transplante de rim, sua principal indicação. Nestes casos, o paciente com nefropatia diabética terminal é candidato ao transplante renal e, portanto, será submetido à intervenção cirúrgica e necessitará de imunossupressão por toda a vida. O transplante de pâncreas, neste contexto, se apresenta como uma terapia complementar, que trará benefícios, com aumento da sobrevida do enxerto renal e do paciente, bem como uma potencial cura para a diabetes, sem aumento na morbimortalidade.<sup>63-67</sup>

No entanto, a indicação para o TPOT isolado é bastante restrita e utiliza os mesmos critérios de indicação do TIP, ficando reservado para casos selecionados de pacientes com diabetes hiperlábil, ou seja, que apresentem história de labilidade glicêmica com complicações metabólicas agudas graves, como episódios de cetoacidose de repetição e/ou hipoglicemia severa, assintomática ou não, mesmo com rigoroso acompanhamento endocrinológico. Além disso, apresenta resultados piores que o transplante pâncreas-rim em relação à sobrevida do enxerto, e, apesar de demonstrar melhores resultados quanto à

insulino-independência em longo prazo, apresenta morbimortalidade maior em relação ao implante de ilhotas.<sup>67-71</sup>

Em um grande estudo multicêntrico norte-americano onde mais de 11000 pacientes na fila para transplante de pâncreas foram avaliados no período de 1995 a 2000, identificou-se, com significância estatística, uma maior mortalidade dos pacientes submetidos ao transplante de pâncreas isolado quando comparados àqueles não transplantados na fila de espera.<sup>71</sup>

Assim como na maioria dos países do mundo, com exceção feita ao Canadá, o TIP é um procedimento experimental no Brasil, e, portanto, enfrenta dificuldades para a obtenção de órgãos para pesquisa, uma vez que os pâncreas de doadores cadáveres são prioritariamente oferecidos para as equipes de TPOT, por se tratar de um método de eficácia reconhecida e estabelecida, ficando para o programa de transplante de ilhotas os órgãos rejeitados por todas as equipes de pâncreas.<sup>72-74</sup>

Nos EUA, em 2005, foram modificados os critérios para a alocação dos pâncreas captados de doadores com morte encefálica. Com a implantação das novas regras, os pâncreas de doadores com IMC maior que 30, bem como aqueles com mais de 50 anos, salvo em casos selecionados, passaram a ser destinados prioritariamente para o TIP.<sup>74</sup>

A principal razão que motivou o desenvolvimento deste estudo foi a tentativa de identificar possíveis diferenças entre o “bom” doador de órgãos para o transplante de pâncreas órgão total e o “bom” doador para o transplante de ilhotas, tendo em vista a realidade da doação de órgãos no Brasil, e, deste modo, tentar estabelecer critérios para a identificação de uma população de doadores cadáveres de pâncreas que possam ser priorizados para o transplante de ilhotas.

### 5.3 Resultados

A identificação de fatores relacionados ao doador e a todo processo de isolamento de ilhotas pancreáticas que possam influenciar diretamente no resultado final do processo vem sendo estudada por alguns grupos. Apesar de diversas variáveis terem sido citadas nestes trabalhos, o índice de massa corporal (IMC) do doador foi apontado como fator diretamente proporcional a um melhor isolamento de ilhotas na maioria dos estudos. (**Quadro 4**)

A obesidade é considerada uma das principais causas da resistência insulínica e, conseqüentemente, leva a uma maior demanda metabólica dessa substância. Esses dois fatores associados representam um estímulo à adaptação das células beta pancreáticas através da neogênese das ilhotas, o que aumenta a massa de células beta nativas.<sup>76,77</sup> Esta regra se aplica apenas a pacientes obesos que não apresentam intolerância a glicose ou diabetes tipo 2, quando a função das células  $\beta$  já se apresenta em decadência.<sup>78</sup>

Garcia-Estevez e col. demonstraram, em um estudo com 87 pacientes não-diabéticos divididos em quatro grupos de acordo com o IMC, diferenças estatisticamente significativas quanto ao grau de resistência insulínica e atividade das células beta. Identificaram que pacientes com IMC acima de 29 apresentam uma maior resposta insulínica à infusão de glicose ( $p < 0,01$ ).<sup>79</sup>

O maior estudo para a identificação de fatores preditores de melhor isolamento de ilhotas foi publicada pelo grupo de Milão em 2005 com 437 isolamentos. Nano e col. identificaram através de análise multivariada o IMC ( $p < 0,0001$ ), peso do pâncreas ( $p < 0,001$ ) e tempo de digestão ( $p < 0,001$ ) como as variáveis estatisticamente significativas para o sucesso do isolamento.<sup>26</sup> Algumas outras variáveis como a idade do doador, tempo de isquemia e o sexo foram identificadas separadamente como preditores de bom isolamento nos poucos estudos acerca do assunto (**Quadro 4**). O presente estudo demonstra apenas o IMC do doador como fator preditor de sucesso para o isolamento de ilhotas

pancreáticas. As outras variáveis referidas nos estudos citados acima também foram analisadas, porém não apresentaram significância nesta casuística.

**Quadro 4 – VARIÁVEIS IDENTIFICADAS COMO FATORES PREDITORES DE SUCESSO NO ISOLAMENTO DE ILHOTAS PANCREÁTICAS**

	<b>n</b>	<b>Fatores Preditores de Isolamento</b>
Zen Y e col. <sup>23</sup>	50	IMC, Idade, Tempo de Isquemia, Causa da Morte
Lakey JR e col. <sup>24</sup>	153	IMC, Idade
Matsumoto I e col. <sup>25</sup>	114	IMC
Kim SC e col. <sup>27</sup>	69	Sexo, Tempo de Digestão
Nano R e col. <sup>26</sup>	437	IMC, Peso do pâncreas, Tempo de Digestão
Hanley SC e col. <sup>28</sup>	171	IMC, Sexo, Idade
Sakuma Y e col. <sup>29</sup>	207	IMC, Tempo de Digestão, Lesão da Cápsula Pancreática

Em 2005, o grupo de Edmonton, por meio de uma análise retrospectiva com 326 doadores, propôs um escore de 0-100 envolvendo diversas variáveis relacionadas ao doador e ao processo de isolamento, a partir do qual foi possível prever o sucesso do isolamento. Neste estudo, as variáveis consideradas com maior peso no escore foram a idade do doador, o tempo de isquemia fria, a causa da morte e o IMC.<sup>75</sup>

Apenas um trabalho, no entanto, sugeriu um ponto de corte para o IMC a partir do qual melhores resultados foram obtidos. Matsumoto e col., em 2004, demonstraram em 114 isolamentos que doadores com IMC > 30 produziram em média 319 mil IEq, enquanto aqueles com IMC < 30 produziram aproximadamente 215 mil IEq ( $p=0,0002$ ).<sup>25</sup> Na segunda fase da análise estatística do presente estudo, foi construída uma curva ROC com o objetivo de se identificar o ponto de corte desta casuística. Coincidentemente o IMC de 30 se mostrou como melhor ponto de corte. Doadores obesos, com IMC > 30, produziram uma média de 277964 IEq, enquanto doadores com IMC < 30 produziram 104874 IEq ( $p<0,001$ ).

Para que fosse possível a construção da curva ROC e identificação de sensibilidade, especificidade e valores preditivos, foi necessária a determinação de um valor para considerarmos o isolamento de ilhotas como satisfatório. Porém esse é um ponto de divergência na literatura.

Lahey e col., em 1996, e Kin e col., em 2005, definiram bons resultados a partir de 100 mil IEq.<sup>24, 27</sup>, enquanto Hanley e col., em 2008, adotaram isolamentos de 250 mil IEq como satisfatórios.<sup>28</sup> Já Matsumoto e col. utilizaram 300 mil IEq como referência de bom isolamento.<sup>25</sup> A variação na identificação de um valor ideal para um bom isolamento alicerçou a adoção de um número intermediário àqueles encontrados na literatura. Ainda assim, foi tomado como base o protocolo de Edmonton<sup>14</sup>, o qual define um valor de aproximadamente 10000 IEq/Kg de peso do receptor como o ideal para a realização com sucesso do implante. Esse valor deve ser atingido com a utilização de 2 - 4 pâncreas processados. Levando-se em conta um peso médio do receptor de 60 – 80 kg, seriam necessários aproximadamente 600 – 800 mil IEq a ser obtidos em no máximo 3 - 4 isolamentos. Um valor de 200 mil IEq por isolamento seria o mínimo aceitável para se atingir essa meta, portanto, foram considerados neste estudo bons isolamentos os que atingiram  $\geq 200$  mil IEq.

Identificada inicialmente na análise univariada como preditora de bom isolamento, a avaliação macroscópica do pâncreas no momento da captação inclui a avaliação visual e a palpação do órgão para a identificação de alterações que possam contra-indicar sua utilização como a presença de tumorações e calcificações. Juntamente com o aspecto visual, a consistência é relatada em um formulário preenchido pelo cirurgião responsável pela captação. Por meio da análise desses dados foi demonstrado que a identificação visual de um pâncreas gorduroso pode ser preditor de um melhor isolamento de ilhotas. Na análise multivariada essa variável acabou excluída, no entanto, não se pode deixar de levá-la em consideração, ao menos como uma tendência, uma vez que apresentou um  $p$  significativo ( $< 0,05$ ) na univariada.

Este julgamento baseado na identificação macroscópica e tátil do pâncreas quanto ao seu aspecto gorduroso pode, em um primeiro momento, parecer um tanto empírico e de difícil mensuração, pois se baseia apenas na experiência e opinião do cirurgião responsável pela captação. Em outras áreas da Medicina, estudos baseados em exames físicos realizados por especialistas têm sido publicados referindo a eficácia do exame clínico quando comparado com exames complementares padrão-ouro para um determinado diagnóstico como, por exemplo, a eficácia do toque retal, quando realizado por proctologistas experientes, no estadiamento do tumor anorretal.<sup>85</sup> Da mesma forma, pode-se considerar que os cirurgiões responsáveis pelas captações de pâncreas para isolamento de ilhotas pancreáticas deste grupo são aptos a determinar se um pâncreas tem aspecto e textura gordurosa e, portanto, poder ser essa informação um preditor de bom isolamento de ilhotas.

#### 5.4 Amostragem

Até o início do presente estudo, 92 isolamentos de ilhotas pancreáticas tinham sido realizados pelo NUCEL. Cinco foram excluídos do estudo por terem sido interrompidos antes do final do processo. Foram selecionados, então, todos os isolamentos realizados seguindo corretamente a sequência de etapas desde o processo de captação do órgão até a cultura das ilhotas, não importando o resultado final. Excluíram-se onze doadores que apresentaram resultado final de zero IEq, devido a falhas consideradas importantes durante o procedimento. Um doador foi excluído por insuficiências de dados coletados. Houve uma exclusão de doador recém-nascido vítima de asfixia neonatal. Em três processos obtiveram-se resultados menores que 5000 IEq, mas como todas as etapas foram cumpridas, não foram excluí-los do estudo. A amostra final de 74 doadores foi analisada segundo a qualidade das informações registradas no banco de dados. Todos apresentavam registros corretamente anotados quanto aos dados dos doadores, fornecidos pela central de transplantes de São Paulo, e as diversas

etapas dos processos de captação e isolamento. Algumas variáveis citadas em outros estudos não constavam nos dados de todos os doadores, desta forma, foram consideradas apenas aquelas presentes em pelo menos 37 (50%) doadores. Isso se deve ao fato de que, ao longo dos anos em que o NUCEL realizou os isolamentos de ilhotas utilizados neste estudo, houve uma evolução da quantidade de dados coletados a respeito de todo o processo, refletindo uma maior compreensão do grupo do NUCEL e de outros grupos a respeito do isolamento de ilhotas e de variáveis que poderiam ser correlacionadas com o número final de IEq.

O cálculo do tamanho amostral deve ser realizado, quando possível, antes de se iniciar o estudo. Neste caso, em que se utilizou uma casuística retrospectiva com o tamanho já definido, as análises foram realizadas e, quando alguma delas forneceu alguma significância estatística, procurou-se calcular o poder do teste. Como a única variável que apresentou associação com o número de IEq foi o IMC, é para esta variável que se calculou o poder do teste. No entanto, o teste utilizado para estudar a associação é um teste não-paramétrico, pois o número de ilhotas não apresenta distribuição normal, não sendo possível calcular o valor exato do poder. O poder-eficiência do teste de Mann-Whitney é de 95% para pequenas amostras (com  $n < 30$ ), assim se pode afirmar que o tamanho amostral (74) é suficiente para as conclusões obtidas.<sup>32</sup>

Já para a segunda etapa do estudo, com construção de curva ROC e cálculos de índices de eficácia, aprofundou-se a análise do IMC em relação à variável dependente **200 mil IEq**, que representa o valor esperado para um “bom” isolamento. Utilizou-se a regressão logística, que por definição exige que para cada variável independente deva-se ter 10 casos da variável dependente. Como nesta casuística somente o IMC apresentou significância estatística (variável independente), e temos 15 casos de isolamentos com resultado superior a 200 mil IEq (variável dependente), é possível afirmar que para a regressão logística temos amostra suficiente para o estudo.<sup>32</sup>

### 5.5. Considerações Finais

O transplante de ilhotas pancreáticas ainda é visto com desconfiança por parte da comunidade médica devido aos resultados inconsistentes em longo prazo. No entanto, é inegável o potencial de reversão da diabetes através da utilização de ilhotas pancreáticas por meio de implante nos pacientes. O fígado é o local mais comumente utilizado para o implante, mas alguns grupos estudam a utilização de outros sítios, como o omento ou o tecido subcutâneo. O grupo do NUCEL e outros pesquisadores vêm desenvolvendo o microencapsulamento de ilhotas, uma alternativa que pode evitar a necessidade de utilização de imunossupressores ao proteger as ilhotas microencapsuladas de anticorpos, citocinas e da ação direta de células do sistema imune.<sup>86</sup> Com o desenvolvimento dessas novas tecnologias, bem como o aprimoramento das técnicas de captação e isolamento das ilhotas, será revelado, muito provavelmente em um futuro próximo, o real papel do TIP no tratamento do DM1.

Apesar de ser um procedimento experimental, ele já é aplicado, a nível protocolar, em seres humanos. Pela necessidade de uma melhor regra de alocação, e acreditando no potencial deste procedimento, é importante que o transplante de ilhotas tenha seus critérios bem estabelecidos pelas entidades que regulam os transplantes de órgãos no Brasil.

A utilização de pâncreas de doadores com IMC maior ou igual a 30 pode ser priorizada para o transplante de ilhotas no Brasil em vista dos resultados de estudos realizados em diferentes centros e, notadamente, do presente estudo que se utiliza da maior casuística nacional disponível.

O aumento e a adequação da oferta de pâncreas para ilhotas são fundamentais para que as equipes nacionais possam garantir espaço na vanguarda da produção de pesquisas e desenvolvimento de tecnologia em isolamento e transplante de ilhotas pancreáticas.

## **6. Conclusões**

## **6. Conclusões**

O IMC do doador cadáver se apresentou como única variável relacionada com o resultado final do isolamento de ilhotas pancreáticas.

Análises estatísticas nesta população demonstraram que o doador com IMC > 30 tem maior possibilidade de proporcionar um melhor isolamento de ilhotas pancreáticas.

## **7. Anexos**

## 7. Anexos

## Anexo 1 – BANCO DE DADOS UTILIZADO NO ESTUDO

## Anexo 1a - Doadores com IMC &gt; 30 (13)

P -- / --	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (EQ)	ABO	IDADE (ANOS)	SEXO	PESO (kg)	ALTURA (m)	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	DM 10 GRAU	HAS	INFECÇÃO	TABAGISMO	UTI (dias)	DROGAS VASOATIVAS 1	DROGAS VASOATIVAS 2	PESO DO PÂNCREAS APÓS LIMPEZA (g)
P19/07	28-ago-07	799800	O	23	F	96	1,73	31,07	F	F	V	F	7	Noradrenalina		101,2
P09/06	19-mai-06	555125	A	35	M	95	1,75	31,0204082	V				2			95
P13/06		380233	A	55	F	90	1,68	31,8877551					4	Noradrenalina	dopamina	108,5
P19/06	29-set-06	363283	O	43	F	95	1,65	34,8943665		V			3		dopamina	85,9
P05/04	10-mar-04	320000	O	51	F	80	1,6	31,25							dopamina	
P20/06	10-out-06	300000	AB	43	M	93	1,76	30,0232438				V	0	Noradrenalina		95,7
P14/05	30-ago-05	229300	A	47	F	90	1,65	33,1					16	Noradrenalina		
P08/07	12-abr-07	207308	B	38	M	100	1,8	30,8	F	F	V	F	10	Noradrenalina		92
P02/07	14-fev-07	144700	A	54	F	105	1,65	39,57	F	V	F	F	4			72
P15/07	16-jul-07	112467	A	21	M	120	1,8	37,03	F	F	F	F	5	Noradrenalina		95,3
P06/05	30-mar-05	73733	O	41	M	110	1,75	35,9					5			
P07/05	07-abr-05	66160	O	56	F	75	1,55	31,2					3		dopamina	
P03/08	13-fev-08	61417	O	46	F	90	1,6	35,15	F	V	V	V	10	Noradrenalina		96,7

P -- / --	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (EQ)	GLICEMIA (mg/dL)	CREATININA (mg/dL)	TGO (u/L)	TGP (u/L)	AMILASE (u/L)	CONSISTÊNCIA (MÉDICO)	GORDURA (MÉDICO)	PESO DO PÂNCREAS APÓS LIMPEZA (G)	CONSISTÊNCIA (EQUIPE)	GORDURA (EQUIPE)	DISTENÇÃO DA CABEÇA	DISTENÇÃO DA CAUDA	TEMPO DE ISQUEMIA FRIA (hs)
P19/07	28-ago-07	799800	105	1,36	95	34	51	NORMAL	gorduroso	101,2	NORMAL	NORMAL	boa	boa	9:30
P09/06	19-mai-06	555125	162	3,4	102,7	81,5	184		gorduroso	95			muito boa	muito boa	9:15h
P13/06		380233	293	1,5	45,0	68,0	63	Macio	gorduroso	108,5			muito boa	muito boa	10:18h
P19/06	29-set-06	363283	106	2,64	795,0	64,0	180	normal	gorduroso	85,9			média	média	6:15h
P05/04	10-mar-04	320000	401				126				RÍGIDO	NORMAL	pouca	pouca	7:15h
P20/06	10-out-06	300000	115	1,92	31,0	34,0	41			95,7			boa	boa	7:20h
P14/05	30-ago-05	229300	106	1,0	44	27	16				NORMAL	gorduroso	média	média	7:25h
P08/07	12-abr-07	207308	219	0,8	124	95	41	NORMAL	NORMAL	92	NORMAL	gorduroso	boa	boa	10
P02/07	14-fev-07	144700	128	2,8	21	85	69	MACIO	gorduroso	72	NORMAL	gorduroso	muito boa	boa	9
P15/07	16-jul-07	112467	84	4,7	511	85	190	NORMAL	NORMAL	95,3	NORMAL	NORMAL	média	RUIM	7
P06/05	30-mar-05	73733	238				110				RÍGIDO	gorduroso	pouca	pouca	4:28h
P07/05	07-abr-05	66160	225-140	1,5	14	16	486				NORMAL	NORMAL	Muito boa	Muito boa	7:00h
P03/08	13-fev-08	61417	232	0,6	64	85	54	NORMAL	gorduroso	96,7	RÍGIDO	NORMAL	boa	RUIM	12

## Anexo 1b - Doadores com IMC &lt; 30 (61)

(1 – 26)

P -- /	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (IEQ)	ABO	IDADE (ANOS)	SEXO	PESO (kg)	ALTURA (m)	IMC (KG/M2)	DM 1º GRAU	HAS	INFECÇÃO	TABAGISMO	UTI (dias)	DROGAS VASOATIVAS 1	DROGAS VASOATIVAS 2	PESO DO PÂNCREAS APÓS LIMPEZA (G)	LOTE DA ENZIMA
P13/04	08-out-04	351217	O	47	F	70	1,65	25,711662					5	Noradrenalina			93142020
P08/05	06-mai-05	293033	O	46	M	85	1,85	24,8					2				93172920
P08/04	21-jun-05	267617	O+	34	F	55	1,6	21,484375					2	Noradrenalina	Dopamina		93103520
P16/06	08-set-06	226200	A	49	F	75	1,6	29,296875	V	V			3		Dopamina	78,7	93410261
P12/04	25-ago-04	208383	O	43	F	80	1,65	29,384757					8		Dopamina		93121020
P16/07	25-jul-07	206783	O	52	F	65	1,7	22,49	F	V	F	F	3		Dopamina	101,6	93435460
P13/05	18-ago-05	204458	O	55	M	85	1,75	27,8					3		Dopamina		93110620
P09/07	27-abr-07	190275	O	49	M	78	1,72	26,36	F	F	V	F	5	Noradrenalina		114	93500960
P25/06	18-nov-06	188833	A	43	F	65	1,6	25,30625					7	noradrenalina		85,5	93435460
P06/07	04-abr-07	187983	B	54	F	70	1,65	25,7	F	V	F	F	1	Noradrenalina		60	93500960
P01/08	14-jan-08	187933	A	58	F	65	1,6	25,4	F	V	V	F	15	Noradrenalina		65,3	93435460
P10/06	16-jun-06	187500	O	51	F	80	1,65	29,384757					0	Noradrenalina		84,9	93410261
P02/05	22-jan-05	180000	A	51	M	80	1,85	23,4					7		Dopamina		
P01/04	09-jan-04	164233		43	M	90	1,9	24,930748					4	Noradrenalina			
P21/06	15-out-06	162884	O	32	F	57	1,6	22,265625	V				12	Noradrenalina		66,2	93410261
P06/04	04-abr-04	162000	O	45	F	80	1,65	29,384757							Noradrenalina		
P15/06	26-ago-06	153503	A	53	F	55	1,55	22,89282	V	V		V	5	Noradrenalina		107	93410261
P04/07	13-mar-07	144117	O	48	F	60	1,55	27	F	V	V	F	6	Noradrenalina		83	93435460
P14/04	19-out-04	143467	O+	42	M	80	1,8	24,691358					13	Noradrenalina	Dopamina		9311620
P19/05	16-dez-05	137567	B	52	F	85	1,75	27,8					3				93366020
P03/06	01-fev-06	129381	O	55	F	60	1,65	22,038567					1	Noradrenalina		96,2	93366020
P03/05	17-fev-05	116383	B	52	F	60	1,56	24,7					10				93222420
P22/06	21-out-06	108866	A	49	F	62	1,55	25,806452		V		V	7	Noradrenalina		62,5	93410261
P05/07	28-mar-07	107958	B	58	F	65	1,65	23,87	F	V	V	F	10	Noradrenalina		44	93471520
P23/07	03-out-07	105958	A	40	F	65	1,6	25,39	V	F	F	F	4	Noradrenalina		66,90	93142020
P10/07	06-mai-07	103000	O	46	F	70	1,65	25,71	F	V	F	F	2	Noradrenalina		95	93500960

P -- /	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (IEQ)	GLUCEMIA (mg/dL)	CREATININA (mg/dL)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	AMILASE (U/L)	CONSISTÊNCIA (MÉDICO)	GORDURA (MÉDICO)	PESO DO PÂNCREAS APÓS LIMPEZA (G)	CONSISTÊNCIA (EQUIPE)	GORDURA (EQUIPE)	DISTENÇÃO DA CIBECA	DISTENÇÃO DA CAUDA	TEMPO DE ISOZEMIA (min)
P13/04	08-out-04	351217	97	2,5	174	93	680				RÍGIDO	Gorduroso	média	média	12:00h
P08/05	06-mai-05	293033	145	1,5	30	16	41				RÍGIDO	NORMAL	BOA	BOA	8:00h
P08/04	21-jun-05	267617	141		31	33	229				NORMAL	Gorduroso	BOA	BOA	5:30h
P16/06	08-set-06	226200	228	2,25	72,0	25,0	43			78,7			BOA	BOA	7:15h
P12/04	25-ago-04	208383		1,2	36	28					RÍGIDO	NORMAL	média	média	2:41h
P16/07	25-jul-07	206783	160	1,8	129	47	164	NORMAL	NORMAL	101,6	RÍGIDO	NORMAL	BOA	média	5
P13/05	18-ago-05	204458	143	0,9	72	36	40				RÍGIDO	Gorduroso	POUCA	POUCA	7:56h
P09/07	27-abr-07	190275	139	1,2	46	54	59	MACIO	Gorduroso	114	NORMAL	Gorduroso	média	média	9
P25/06	18-nov-06	188833	327	1,4	176,0	341,0	219	MACIO	Gorduroso	85,5			BOA	BOA	12h
P06/07	04-abr-07	187983	162	0,96	106	60	38	FIRME	Gorduroso	60	RÍGIDO	Gorduroso	média	média	11
P01/08	14-jan-08	187933	132	0,7	93	88	29	FIRME	Gorduroso	65,3	RÍGIDO	Gorduroso	POUCA	POUCA	10
P10/06	16-jun-06	187500	81	1,5	81,0	78,0	1861			84,9			BOA	BOA	12h
P02/05	22-jan-05	180000	150	1,3-2,4	74	43	59				RÍGIDO	NORMAL	média	média	8:00h
P01/04	09-jan-04	164233	89				50						média	média	9:00h
P21/06	15-out-06	162884	138	0,6	127,0	64,0	37	NORMAL	NORMAL	66,2			média	média	7:45h
P06/04	04-abr-04	162000	162				207				RÍGIDO	NORMAL	BOA	BOA	6:00h
P15/06	26-ago-06	153503	233,9	1,1	18,0	16,0	28	NORMAL	NORMAL	107			BOA	BOA	9:05h
P04/07	13-mar-07	144117	225	0,82	23	16	52	MACIO	NORMAL	83	NORMAL	Gorduroso	BOA	BOA	13
P14/04	19-out-04	143467	186	1	50	49	30				NORMAL	Gorduroso	média	média	12:00h
P19/05	16-dez-05	137567	90				60				RÍGIDO	Gorduroso	BOA	BOA	11h
P03/06	01-fev-06	129381	156		45,0	301,0	47			96,2			BOA	BOA	11h
P03/05	17-fev-05	116383									NORMAL	Gorduroso	BOA	média	
P22/06	21-out-06	108866	194	0,62	14,0	36,0	45	MACIO	Gorduroso	62,5			BOA	BOA	10:15h
P05/07	28-mar-07	107958	163	1,2	28	24	91	NORMAL	NORMAL	44	NORMAL	Gorduroso	média	média	6
P23/07	03-out-07	105958	126	1,9	155,3	444	34	NORMAL	NORMAL	66,90	NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	21:00
P10/07	06-mai-07	103000	66	1,1	75	35	30	MACIO	NORMAL	95	RÍGIDO	Gorduroso	BOA	BOA	9

(27 – 51)

P - / -	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (IEQ)	ABO	IDADE (ANOS)	SEXO	PESO (kg)	ALTURA (m)	IMC (KG/M2)	DM 1o GRAU	HAS	INFECÇÃO	TABAGISMO	UTI (dias)	DROGAS VASOATIVAS 1	DROGAS VASOATIVAS 2	PESO DO PÂNCREAS APOS LIMPEZA (G)	LOTE DA ENZIMA
P17/05	15-out-05	100000	B	39	F	60	1,6	23,4					15	Noradrenalina			93331620
P08/06	10-mai-06	93333	B	55	F	75	1,6	29,296875					3	Noradrenalina		97,9	93410261
P07/04	15-jun-04	92200															93121020
P24/07	09-nov-07	88700	O	34		75	1,75	24,49	V	F	F	F	7	Noradrenalina		90	93142020
P17/06	20-set-06	86500	O	23	F	75	1,7	26,951567	V				10	Noradrenalina		76,0	93435460
P04/05	26-fev-05	85000		52	F	55	1,6	21,5					2				93222420
P04/04	04-mar-04	83950	O	49	F	65	1,63	24,464602							dopamina		
P15/04	06-nov-04	80033	B	43	F	58	1,6	22,65625					4	Noradrenalina			93222420
P26/07	06-dez-07	72933	A	46	M	72	1,8	21,17	F	F	F	F	6	Noradrenalina		76,5	93366020
P18/06	25-set-06	70000	A	48	M	80	1,75	26,122449		V			3	Noradrenalina		84,1	93435460
P05/08	14-mar-08	69850	O	48	F	50	1,64	18,59	V	V	F	V	4	Noradrenalina		92,5	071414
P18/05	26-out-05	66733	O	43	F	75	1,65	27,5					2				93331620
P13/07	15-mai-07	66133	O	56	M	75	1,71	25,65	F	V	V	F	0			100	93500960
P07/07	10-abr-07	66000	O	51	F	70	1,65	25,7	F	V	F	F	1		dopamina	89	93435460
P16/05	27-set-05	60000	B	53	F	65	1,56	26,7					10	Noradrenalina			93222420
P18/07	22-ago-07	59983	A	55	F	60	1,59	23,73	F	V	V	V	5	Noradrenalina		43,4	93410261
P09/04	14-jul-04	57800	A	31	F	60	1,65	22,038567					10	Noradrenalina			
P11/04	09-ago-04	54283	B	34	F	65	1,6	25,390625					1		dopamina		
P05/06	25-mar-06	51000	A	55	F	70	1,6	27,34375		V			6	Noradrenalina		92	93366020
P05/05	09-mar-05	50000	B	42	M	100	1,85	29,2					3	Noradrenalina			93222420
P01/05	19-jan-05	47000	A	20	M	100	1,85	29,2					2	Noradrenalina			93222420
P26/06	09-dez-06	45483	O	19	F	54	1,56	22,189349	V		V		2	Noradrenalina		60,7	93435460
P09/05	08-jun-05	43000	O	41	F	65	1,85	19					2	Noradrenalina			93222420
P10/05	30-jun-05	43000	B	42	F	50	1,6	19,5					1	Noradrenalina			93288220
P11/05	02-ago-05	42917		34	F	55	1,6	21,5					2	Noradrenalina			93288220
P25/07	18-nov-07	38108	A	39	F	67	1,66	24,36	V	V	F	F	1			82,2	93142020

P07/04 – excluído do estudo por falta de dados

P - / -	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (IEQ)	GLICEMIA (mg/dL)	CREATININA (mg/dL)	TGO (u/L)	TGP (u/L)	AMILASE (u/L)	CONSISTENCIA (MEDICO)	GORDURA (MEDICO)	PESO DO PÂNCREAS APOS LIMPEZA (G)	CONSISTENCIA (EQUIPE)	GORDURA (EQUIPE)	DISTENÇÃO DA DABEÇA	DISTENÇÃO DA CALDA	TEMPO DE ISOLEMIA FRA(he)
P17/05	15-out-05	100000	128				85				NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	
P08/06	10-mai-06	93333	193		Normal	Normal	90			97,9			BOA	BOA	5:30h
P07/04	15-jun-04	92200									RÍGIDO	NORMAL	média	média	6:22h
P24/07	09-nov-07	88700	135	0,86	49	121	43	MACIO	NORMAL	90	RÍGIDO	NORMAL	BOA	BOA	05:45
P17/06	20-set-06	86500	129	7,31	97,0	21,0	84	FIRME	NORMAL	76,9			BOA	média	6:30h
P04/05	26-fev-05	85000					750				RÍGIDO	NORMAL	BOA	média	7:00h
P04/04	04-mar-04	83950	236				79						BOA	BOA	9:00h
P15/04	06-nov-04	80033	171	2,5	31	30	14				RÍGIDO	Gorduroso	média	POUCA	5:25h
P26/07	06-dez-07	72933	103	1,2	24	27	58	MACIO	NORMAL	76,5	NORMAL	Gorduroso	BOA	média	
P18/06	25-set-06	70000	67	2,4	27,0	20,0	35	FIRME	gorduroso	84,1			média	média	7:37h
P05/08	14-mar-08	69850	116	1,81	80	59	18	NORMAL	gorduroso	92,5	NORMAL	Gorduroso	POUCA	POUCA	7
P18/05	26-out-05	66733	83,0	1,9	21	14	141						BOA	BOA	
P13/07	15-mai-07	66133	155	0,75	21	12	234	FIRME	gorduroso	100	RÍGIDO	Gorduroso	média	POUCA	12
P07/07	10-abr-07	66000	94	0,59	35	13	30	MACIO	NORMAL	89	NORMAL	NORMAL	BOA	média	7
P16/05	27-set-05	60000	103-113				294				NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	
P18/07	22-ago-07	59983	149	1,25	46	30	28	NORMAL	NORMAL	43,4	NORMAL	NORMAL	BOA	média	8
P09/04	14-jul-04	57800	176	0,7	20	33	49				NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	21:00h
P11/04	09-ago-04	54283	138	2,1	171	133	30				NORMAL	NORMAL	média	média	7:30h
P05/06	25-mar-06	51000	134	0,97	32,0	37,0	65	MACIO	NORMAL	92			POUCA	POUCA	11h
P05/05	09-mar-05	50000	109				24				RÍGIDO	Gorduroso	BOA	BOA	4:27h
P01/05	19-jan-05	47000	164-223-193	1,0	26	22	44				RÍGIDO	NORMAL	BOA	média	6:25h
P26/06	09-dez-06	45483	129	0,6	123,0	62,0	35	MACIO	NORMAL	60,7			BOA	BOA	12h
P09/05	08-jun-05	43000	185-188	1,0	12	11	165				RÍGIDO	NORMAL	POUCA	BOA	3:50h
P10/05	30-jun-05	43000	160-170				160				NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	3:50h
P11/05	02-ago-05	42917	141				16				NORMAL	NORMAL	média	BOA	4:53h
P25/07	18-nov-07	38108	112	2,33	17	11	80	NORMAL	NORMAL	82,2	NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	6:00

P07/04 – excluído do estudo por falta de dados

(52 – 61)

P -- / --	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (EQ)	ABO	IDADE (ANOS)	SEXO	PESO (kg)	ALTURA (m)	IMC (KG/M2)	DM 10 GRAU	HAS	INFECÇÃO	TABAGISMO	UTI (dias)	DROGAS VASOATIVAS 1	DROGAS VASOATIVAS 2	PESO DO PÂNCREAS APOÓS LIMPEZA (G)	LOTE DA ENZIMA
P14/07	31-mai-07	32125	O	58	F	58	1,5	22,22	F	F	V	F	9	Noradrenalina		63,4	93500960
P02/06	31-jan-06	32000	O	54	F	75	1,65	27,548209	V				11	Noradrenalina		99	93222420
P23/06	26-out-06	25000	O	41	F	60	1,65	22,038567	V	V		V	0	Noradrenalina		95,2	93410261
P15/05	10-set-05	23000	A	54		70	1,7	24,2					3	Noradrenalina			93222420
P12/06	16-jul-06	13974	O	36	M	75	1,7	25,951557	V				2		dopamina	84,9	93410261
P21/07	21-set-07	12733	O	8	M	26	1,42	13	F	F	V	F	9	Noradrenalina		39,5	93500960
P01/07	19-jan-07	9917	O	39	M	80	1,74	26,42	F	V	F	F	2	Noradrenalina	dopamina	71	93435460
P04/08	21-fev-08	4250	O	29	M	75	1,6	29,29	V	F	F	F	4	Noradrenalina		111,6	13497900
P01/06	09-jan-06	3000	O	33	F	75	1,7	25,951557	V			V	2	Noradrenalina		90	93331620
P14/06	22-jul-06	48	A	49	F	70	1,65	25,711662					13	Noradrenalina		68,9	93366020

P -- / --	DATA	CONTAGEM FRAÇÃO PURA (EQ)	GLUCEMIA (mg/dL)	CREATININA (mg/dL)	TGO (u/L)	TGP (u/L)	AMILASE (u/L)	CONSISTÊNCIA (MÉDICO)	BORDURA (MÉDICO)	PESO DO PÂNCREAS APOÓS LIMPEZA (G)	CONSISTÊNCIA (EQUIPE)	BORDURA (EQUIPE)	DISTENÇÃO DA CABEÇA	DISTENÇÃO DA CALDA	TEMPO DE ISQUEMIA FIBR(%)
P14/07	31-mai-07	32125	139	0,46	61	74	95			63,4	NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	6
P02/06	31-jan-06	32000	257		176,0	348,0	37			99			média	média	6h
P23/06	26-out-06	25000	139	1,2	36,0	30,0	285	NORMAL	Gorduroso	95,2			BOA	BOA	7h
P15/05	10-set-05	23000	164				45				NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	
P12/06	16-jul-06	13974	79	1,31	65,0	19,0	130	RÍGIDO	Gorduroso	84,9			BOA	média	6:40h
P21/07	21-set-07	12733	114	0,58	314	169	90	NORMAL	NORMAL	39,5	NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	8:30
P01/07	19-jan-07	9917	82	2,8	239	92	89	RÍGIDO		71	RÍGIDO	Gorduroso	BOA	POUCA	3
P04/08	21-fev-08	4250	131	1,6	360	109	429	NORMAL	NORMAL	111,6	NORMAL	NORMAL	BOA	BOA	9
P01/06	09-jan-06	3000	155	1,5	28,0	28,0	49	NORMAL	NORMAL	90			BOA	BOA	5:25h
P14/06	22-jul-06	48	83	0,8	42,0	32,0	53	RÍGIDO	NORMAL	68,9			BOA	BOA	8:00h

## **8. Referências**

## 8. Referências

1. Minkowski O. *Weitere Mitteilungen uber den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas*. Berl Klin Wochenschr 1892, 29:90-96.
2. Williams P. *Notes on diabetes treated with extract and by grafts of sheep's pancreas*. BMJ 1894,;:1303.
3. Pybus F. *Notes on suprarenal and pancreatic grafting*. Lancet 1924,;:550-551.
4. Banting FG et al. *Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus*. 1922. Indian J Med Res 2007, 125(3):141-6.
5. Eliaschewitzl FG, Francoll DR. *O diabetes hiperlábil existe como entidade clínica?*. Arq Bras Endocrinol Metab 2009, 53(4).
6. Tattersall RB. *Brittle diabetes revisited: the Third Arnold Bloom Memorial Lecture*. Diabet Med 1997, 14(2):99-110.
7. Moskalewski S., *Studies on the culture and transplantation of isolated islets of langerhans of the guinea pig*. Proc K Ned Akad Wet C 1969, 72:157-171.
8. Ballinger WF, Lacy PE. *Transplantation of intact pancreatic islets in rats*. Surgery 1972, 72:175-186.
9. Kemp CB, Scharp DW, Lacy PE, Ballinger WF. *Transplantation of isolated pancreatic islets into the portal vein of diabetic rats*. Nature 1973, 244:447.
10. Najarian JS, Matas AJ, Steffes MW, Simmons RL, Goetz FC. *Human islet transplantation: Apreliminary report*. Transplant Proc 1977, 9:233-236.
11. Scharp DW, Santiago JV, McCullough CS, Weide LG, Falqui L, Marchetti P, Gingerich RL, Jaffe AS, Cryer PE. *Insulin independence after islet transplantation into type I diabetic patient*. Diabetes 1990, 39:515-518.
12. *International Islet Transplant Registry Report*. 1999, University of Giessen: Giessen.
13. Bretzel RG, Brandhorst H, Eckhard M, Ernst W, Friemann S, RauW, Weimar B, Rauber K, Hering BJ, Brendel MD. *Improved survival of intraportal pancreatic islet cell allografts in patients with type-1 diabetes mellitus by refined peritransplant management*. J Mol Med 1999, 77:140-143.
14. Shapiro AM, Lakey J, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, Kneteman NM, Rajotte RV. *Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes*

- mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen.* N Engl J Med 2000, 343:230-238.
15. Shapiro JAM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, Secchi A, Brendel MD, Berney T, Brennan DC, Cagliero E, Alejandro R, Ryan EA, DiMercurio B, Morel P, Polonsky KS, Reems JA, Bretzel RG, Bertuzzi F, Froud T, Kandaswamy R, Sutherland DER, Eisenbarth G, Segal M, Preiksaitis J, Korbutt GS, Barton FB, Viviano L, Seyfert-Margolis V, Bluestone J, Lakey JRT. *International Trial of the Edmonton Protocol for Islet Transplantation.* N Engl J Med 2006, 355(13):1318-1330.
  16. Gruessner RWG, Sutherland DER, Kandaswamy R, Gruessner AC. *Over 500 Solitary Pancreas Transplants in Nonuremic Patients with Brittle Diabetes Mellitus.* Transplantation 2008, 85(1):42-47.
  17. Robertson RP, Davis C, Larsen JL, Stratta RJ, Sutherland DER. *Pancreas and islet transplantation for patients with diabetes (Technical Review).* Diabetes Care 2000, 23:112.
  18. Naftanel MA, Harlan DM. *Pancreatic Islet Transplantation.* PLoS Med 2004, 1(3): e58.
  19. U.S. Organ and Tissue Transplant Cost Estimates and Discussion. Milliman Inc. 2008.  
<http://www.milliman.com/expertise/healthcare/publications/rr/pdfs/2008-us-organ-tisse-RR4-1-08.pdf>
  20. Dean PG, Kudva YC, Stegall MD. *Long-term benefits of pancreas transplantation.* Curr Opin Organ Transplant 2008, 13:85–90.
  21. Hering BJ, Ansite JD, Eckman PM, Nakano M, Sawada T, Matsumoto I, Ihm SH, Zhang H, Parkey J, Hunter DW, Sutherland DER. *Single-Donor, Marginal-Dose Islet Transplantation in Patients With Type 1 Diabetes.* JAMA 2005, 293(7):830-835.
  22. Matsumoto S, Iwanaga Y, Noguchi H, Nagata H, Yonekawa Y, Yamada Y, Nakai Y, Ueda M, Ishii A, Yabunaka E, Shapiro JA, Tanaka K. *Insulin Independence of Unstable Diabetic Patient After Single Living Donor Islet Transplantation.* Transplantation Proceedings 2005, 37:3427-3429.
  23. Zeng Y, Torre MA, Karrison T, Thistlethwaite JR. *The correlation between donor characteristics and the success of human islet isolation.* Transplantation 1994, 27;57(6):954-8.
  24. Lakey JR, Warnock GL, Rajotte RV, et al. *Variables in organ donors that affect the recovery of human islets of Langerhans.* Transplantation 1996, 61:1047-1053.

25. Matsumoto I, Sawada T, Nakano M, Sakai T, Liu B, Ansite JD, Zhang HJ, Kandaswamy R, Sutherland DE, Hering BJ. *Improvement in islet yield from obese donors for human islet transplants*. *Transplantation* 2004, 27;78(6):880-5.
26. Nano R, Clissi B, Melzi R et al. *Islet isolation for allotransplantation: variables associated with successful islet yield and graft function*. *Diabetologia* 2005, 48:906–912.
27. Kim SC, Han DJ, Kang CH et al. *Analysis on donor and isolation-related factors of successful isolation of human islet of Langerhans from human cadaveric donors*. *Transplant Proc* 2005, 37:3402–3403.
28. Hanley, S.C., Paraskevas, S. & Rosenberg, L. *Donor and isolation variables predicting human islet isolation success*. *Transplantation* 2008, 85:950-955.
29. Sakuma Y, Ricordi C, Miki A, Yamamoto T, Pileggi A, Khan A, Alejandro R, Inverardi L, Ichii H. *Factors That Affect Human Islet Isolation*. *Transplantation Proceedings* 2009, 40(2):343-345.
30. Linetsky E, Bottino R, Lehmann R, Alejandro R, Inverardi L, Ricordi C. *Improved human islet isolation using a new enzyme blend, liberase*. *Diabetes* 1997, 46(7):1120-1123.
31. Mahler R, Franke FE, Hering BJ, Brandhorst D, Brandhorst H, Brendel MD, Federlin K, Schulz A, Bretzel RG. *Evidence for a significant correlation of donor pancreas morphology and the yield of isolated purified human islets*. *J Mol Med* 1999, 77:87-89.
32. Rosner B. - *Fundamentals of Biostatistics* - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584pp.
33. Waisberg J, Gonçalves JE, Cruz RRM, Landman G, Speranzini MB. *Technical basis of autotransplantation of islets in the spleen: an experimental study in dogs*. *Arq Bras Cir Dig* 1989, 4:14-20.
34. Brendel MD, Hering BJ, Schultz AO, et al: *International Islet Transplant Registry* 2001:Newsletter No 9.
35. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. *Automated method for isolation of human pancreatic islets*. *Diabetes* 1988, 37(4):413-20.
36. Ricordi C; Tzakis A G; Carroll P B; Zeng Y J; Rilo H L; Alejandro R; Shapiro A; Fung J J; Demetris A J; Mintz D H. *Human islet isolation and allotransplantation in 22 consecutive cases*. *Transplantation* 1992, 53(2):407-14.
37. Bellin MD, Kandaswamy R, Parkey J, Zhang HJ, Liu B, Ihm SH, Ansite JD, Witson J, Bansal-Pakala P, Balamurugan AN, Papas K, Sutherland DE,

- Moran A, Hering BJ. *Prolonged insulin independence after islet allotransplants in recipients with type 1 diabetes*. Am J Transplant 2008, 8(11):2463-70.
38. Froud T, Ricordi C, Baidal DA, Hafiz MM, Ponte G, Cure P, Pileggi A, Poggioli R, Ichii H, Khan A, Ferreira JV, Pugliese A, Esquenazi VV, Kenyon NS, Alejandro R. *Islet transplantation in type 1 diabetes mellitus using cultured islets and steroid-free immunosuppression: Miami experience*. Am J Transplant 2005, 5(8):2037-46.
  39. Ryan EA, Lakey JRT, Shapiro AMJ. *Five-Year Follow-Up After Clinical Islet Transplantation*, Diabetes 2005, 54:2060-2069.
  40. Gruessner RWG, Sutherland DER, Drangstveit MB, Bland BJ, Gruessner AC. *Pancreas Transplants From Living Donors: Short- and Long-Term Outcome*. Transplantation Proceedings 2007, 39(7):2323-2325.
  41. Boggi U, Del Chiaro M, Vistoli F, Signori S, Vanadia Bartolo T, Gremmo F, Marchetti P, Coppelli A, Rizzo G, Mosca F. *Pancreas Transplantation From Marginal Donors*. Transplantation Proceedings 2004, 36(3):566-568.
  42. Fernandez LA, Di Carlo A, Odorico JS, Levenson GE, Shames BD, Becker YT, Chin LT, Pirsch JD, Knechtle SJ, Foley DP, Sollinger HW, D'Alessandro AM. *Simultaneous pancreas-kidney transplantation from donation after cardiac death: Successful long-term outcomes*. Ann Surg 2005, 242: 716–723.
  43. Jingu K, Asano T, Kenmochi T, Matsui Y, Miyauchi H, Maruyama M, Iwashita C, Ochiai T. *Evaluation of Non-Heart-Beating Donors as a Potential Source for Pancreatic Islet Transplantation*. Transplantation Proceedings 2001, 33:1492–1493.
  44. Matsumoto S, Tanaka K. *Pancreatic islet cell transplantation using non-heart-beating-donors*. J Hepato-Biliary-Pancreatic Surg 2005, 12:227.
  45. Markmann JF, Deng S, Desai NM, Huang X, Velidedeoglu E, Frank A, Liu C, Brayman KL, Lian MM, Wolf B, Bell E, Vitamaniuk M, Doliba N, Matschinsky F, Markmann E, Barker CF, Naji A. *The use of non-heart-beating donors for isolated pancreatic islet transplantation*. Transplantation 2003, 75(9):1423–1429.
  46. Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Noguchi H, Nagata H, Yonekawa Y, et al. *Successful islet transplantation from nonheartbeating donor pancreata using modified Ricordi islet isolation method*. Transplantation 2006, 82:460–5.
  47. Noguchi H, Iwanaga Y, Okitsu T, Nagata H, Yonekawa Y, Matsumoto S. *Evaluation of islet transplantation from non-heart beating donors*. Am J Transplant 2006, 6:2476–82.

48. Noguchi H, Matsumoto S. *J Islet transplantation at the Diabetes Research Institute Japan Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008, 15:278–283.
49. Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, et al: *Insulin independence after living-donor distal pancreatectomy and islet allotransplantation*. *Lancet* 2005, 365:1642.
50. Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Noguchi H, Nagata H, Yonekawa Y, Liu X, Kamiya H, Ueda M, Hatanaka N, Kobayashi N, Yamada Y, Miyakawa S, Seino Y, Shapiro AM, Tanaka K. *Follow-up study of the first successful living donor islet transplantation*. *Transplantation* 2006, 27;82(12):1629-33.
51. Moskalewski S: *Studies on the culture and transplantation of isolated islets of Langerhans of the guinea pig*. *Proc K Ned Akad Wet C* 1969, 72:157–171.
52. Digon III BJ. *History of Islet Transplantation*. *Current Diabetes Reports* 2009, 9:312–316.
53. Ricodi C, Lacy PE, Scharp DW. *Automated islet isolation from human pancreas*. *Diabetes* 1989, 38: 140.
54. Goto M, Eich TM, Felldin M, et al. *Refinement of the automated method for human islet isolation and presentation of a closed system for in vitro islet culture*. *Transplantation* 2004, 78: 1367.
55. Brandhorst D, Huettler S, Alt A, et al. *Adjustment of the ratio between collagenase class II and I improves islet isolation outcome*. *Transplant Proc* 2005, 37: 3450.
56. Kin T, Johnson PRV, Shapiro AMJ, Lakey JRT. *Factors Influencing the Collagenase Digestion Phase of Human Islet Isolation*. *Transplantation* 2007, 83(1):7-12.
57. Antonioli B, Fermo I, Cainarca S, Marzorati S, Nano R, Baldissera M, Bachi A, Paroni R, Ricordi C, Bertuzzi F. *Characterization of collagenase blend enzymes for human islet transplantation*. *Transplantation* 2007, 27;84(12):1568-75.
58. Mirbolook M, Lakey JRT. *Pancreas Preservation for Islet Isolation*. in: *Islet Transplantation and Beta Cell Replacement Therapy*. Shapiro AMJ, ed Informa Healthcare 2007, 5:99.
59. Kuroda Y, Kawamura T, Suzuki Y, Fujiwara H, Yamamoto K, Saitoh Y. *A new, simple method for cold storage of the pancreas using perfluorochemical*. *Transplantation* 1988, 46(3):457-60.

60. Hiraoka K, Trexler A, Eckman E, et al. *Successful pancreas preservation before islet isolation by the simplified two-layer cold storage method.* Transplant Proc 2001, 33:952.
61. Tanioka Y, Sutherland DER, Kuroda Y, et al. *Excellence of the two-layer method (University of Wisconsin solution/perfluorochemical) in pancreas preservation before islet isolation.* Surgery 1997, 122:435.
62. Sawada T, Matsumoto I, Nakano M, Kirchhof N, Sutherland DE, Hering BJ. *Improved islet yield and function with ductal injection of University of Wisconsin solution before pancreas preservation.* Transplantation 2003, 75: 1965.
63. Bunnapradist S, Cho YW, Cecka JM, Wilkinson A, Danovitch GM. *Kidney allograft and patient survival in type I diabetic recipients of cadaveric kidney alone versus simultaneous pancreas/kidney transplants: a multivariate analysis of the UNOS database.* J Am Soc Nephrol 2003, 14:208-213.
64. Smets YF, Westendorp RG, van der Pijl JW, de Charro FT, Ringers J, de Fijter JW, Lemkes HH. *Effect of simultaneous pancreas-kidney transplantation on mortality of patients with type-1 diabetes mellitus and end-stage renal failure.* Lancet 1999, 353(9168):1915-9.
65. Sollinger HW, Odorico JS, Knechtle SJ, D'Alessandro A, Kalayoglu M, Pirsch JD. *Experience With 500 Simultaneous Pancreas-Kidney Transplants.* Annals of Surgery, 228(3):284-296.
66. Becker BN, Brazy PC, Becker YT, Odorico JS, Pintar TJ, Collins BH, Pirsch JD, Levenson GE, Heisey DM, Sollinger HW. *Simultaneous pancreas-kidney transplantation reduces excess mortality in type 1 diabetic patients with end-stage renal disease.* Kidney International 2000, 57:2129–2135.
67. Sá JR, Gonzalez AM, Melaragno CS, Saitovich D, Franco DR, Rangel EB, Noronha IL, Pestana JOM, Bertoluci MC, Linhares M, Miranda MP, Monteagudo P, Genzini T, Eliaschewitz FG. *Transplante de pâncreas e ilhotas em portadores de diabetes melito.* Arq Bras Endocrinol Metab 2008, 52(2).
68. *American Diabetes Association Positional Statements: pancreas and islet transplantation in type 1 diabetes.* Diabetes Care 2006, 29:935.
69. Nathan DM. *Isolated Pancreas Transplantation for Type 1 Diabetes: A Doctor's Dilemma.* JAMA 2003, 290(21):2861-2863.
70. Sutherland DER, Gruessner AC. *Long-Term Results After Pancreas Transplantation.* Transplantation Proceedings 2007, 39(7):2323-2325.

71. Venstrom JM, McBride MA, Rother KI, Hirshberg B, Orchard TJ, Harlan DM. *Survival after pancreas transplantation in patients with diabetes and preserved kidney function.* JAMA 2003, 290:2817–2823.
72. Ris F, Toso C, Veith FU, Majno P, Morel P, Oberholzer J. *Are criteria for islet and pancreas donors sufficiently different to minimize competition?* Am J Transplant 2004, 4:763.
73. Ridgway DM, White SA, Kimber RM, Nicholson ML. *Current practices of donor pancreas allocation in the UK: future implications for pancreas and islet transplantation.* Transplant International 2005, 18(7):828-834.
74. Stegall MD, Dean PG, Sung R, Guidinger MK, McBride MA, Sommers C, Basadonna G, Stock PG, Leichtman AB. *The Rationale for the New Deceased Donor Pancreas Allocation Schema.* Transplantation Issue 2007, 83(9):1156-1161.
75. O’Gorman D, Kin T, Murdoch T, et al. *The standardization of pancreatic donors for islet isolations.* Transplantation 2005, 80: 801.
76. Liu YQ, Jetton TL, Leahy JL. *Beta-cell adaptation to insulin resistance. Increased pyruvate carboxylase and malate–pyruvate shuttle activity in islets of nondiabetic Zucker fatty rats.* J Biol Chem 2002, 277:39163–39168.
77. Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, Neifing JL, Ward WK, Beard JC, Palmer JP, et al. *Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function.* Diabetes 1993 Nov;42(11):1663-72.
78. Kahn SE, Prigeon RL, Schwartz RS, Fujimoto WY, Knopp RH, Brunzell JD, Porte Jr. D. *Obesity, Body Fat Distribution, Insulin Sensitivity and Islet-Cell Function as Explanations for Metabolic Diversity.* Journal of Nutrition. 2001,131:354S-360S.
79. Garcia-Estevez D.A., Araujo-Vilar D., Saavedra-Gonzalez A., Fiestras-Janeiro G., Cabezas-Cerrato J. *Analysis of the relationship between body mass index, insulin resistance, and beta-cell function: A cross-sectional study using the minimal model.* Metabolism: Clinical and Experimental 2004, 53(11),1462-1466.
80. Warnock GL, Thompson DM, Meloche RM, et al. *A multi-year analysis of islet transplantation compared with intensive medical therapy on progression of complications in type 1 diabetes.* Transplantation 2008, 86:1762–1766.

81. Alejandro R, Barton FB, Herring BJ, et al. *2008 update from the Collaborative Islet Transplant Registry*. *Transplantation* 2008, 86:1783–1788.
82. Cure P, Pileggi A, Froud T, et al. *Improved metabolic control and quality of life in seven patients with type 1 diabetes following islet after kidney transplantation*. *Transplantation* 2008, 85: 801.
83. Tharavani T, Betancourt A, Messinger S, et al.: *Improved long-term health-related quality of life after islet transplantation*. *Transplantation* 2008, 86:1161–1167.
84. Leitão CB, Tharavani T, Cure P, et al.: *Restoration of hypoglycemia awareness after islet transplantation*. *Diabetes Care* 2008, 31:2113–2115.
85. Jucá MJ, Matos D, D'ippolito G. *Estudo da avaliação do exame digitaldo reto no estadiamento clínico pré-operatório dos adenocarcinomas tocáveis de reto*. *Rev. bras. colo-proctol*, 1999,19(4):248-58.
86. Campos-Lisbôa AC, Mares-Guia TR, Grazioli G, Goldberg AC, Sogayar MC. *Biodritin microencapsulated human islets of Langerhans and their potential for type 1 diabetes mellitus therapy*. *Transplantation Proceedings* 2008, 40(2):433-435.
87. Kuroda Y, Kawamura T, Suzuki Y, Fujiwara H, Yamamoto K, Saitoh Y. *A new, simple method for cold storage of the pancreas using perfluorochemical*. *Transplantation* 1988, 46(3):457-60.

## **APÊNDICE**

## Aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital São Paulo

São Paulo, 26 de setembro de 2008.  
CEP 1460/08

Ilmo(a). Sr(a).  
Pesquisador(a) GUSTAVO PILOTTO DOMINGUES SÁ  
Co-Investigadores: Adriano Gonzalez (orientador), Thiago Rennó, Délcio Matos  
Disciplina/Departamento: Gastroenterologia Cirúrgica/Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo  
Patrocinador: Recursos Próprios.

### PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref. Projeto de pesquisa intitulado: "Análise uni e multivariada relacionando dados clínicos e laboratoriais do doador de órgãos cadáver, processo de captação de pâncreas e processo de digestão e isolamento de ilhotas pancreáticas com o resultado final do número total de ilhotas pancreáticas isoladas".

**CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO:** Retrospectivo, análise de banco de dados.

**RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE:** Sem contato com paciente.

**OBJETIVOS:** Estabelecer se existe relação individual entre as múltiplas variáveis relacionadas ao doador e ao processo de captação e isolamento de ilhotas com o número total de ilhotas pancreáticas isoladas..

**RESUMO:** Estudo retrospectivo, analisando dados armazenados em banco de dados do Núcleo de Terapia Celular e Molecular (NUCEL) do Instituto de Química da USP. Através de dados colhidos prospectivamente e armazenados em um banco de dados contendo múltiplas variáveis, referentes tanto aos doadores quanto ao processo de isolamento das ilhotas, este estudo visa estabelecer alguma relação entre as variáveis identificadas e o resultado final na contagem do número de ilhotas isoladas. Serão analisadas as seguintes variáveis: 1- relacionadas ao doador: peso, idade, sexo, IMC, tempo de UTI, utilização de drogas vasoativas, tabagismo, HAS, DM em parentes de 1 grau e tipo sanguíneo; 2- laboratoriais: glicemia, uréia, creatinina, ALT, AST, amilase; 3- relacionados ao processo de captação e isolamento das ilhotas: peso do pâncreas, aspecto do pâncreas durante a captação, tempo de isquemia, lote da enzima utilizada na digestão do pâncreas e aspecto do pâncreas durante processo de isolamento..

**FUNDAMENTOS E RACIONAL:** Recentemente, novas formas de terapia insulínica têm surgido com resultados promissores, como insulinas inalatórias, bombas de insulina, transplante de pâncreas total e implante de ilhotas pancreáticas. Diversos fatores influenciam no sucesso do isolamento de ilhotas pancreáticas que vão desde a captação do órgão até o processo final de purificação no laboratório.

**MATERIAL E MÉTODO:** Estão descritos os procedimentos. O estudo realizará análise de banco de dados, sem contato com paciente. Os dados armazenados foram obtidos após aprovação pelo CEP do Hospital Albert Einstein e CONEP..

**TCLE:** Não se aplica.

**DETALHAMENTO FINANCEIRO:** Sem financiamento externo.



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital São Paulo

CRONOGRAMA:

OBJETIVO ACADÊMICO: Mestrado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 21/9/2009 e 21/9/2010.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da  
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

146008

OUT-29-2001 02:31P DE: 36618351

PARA: 038183620

P: 2

OUT/29/01 09:53

PAGINA: 02



INSTITUTO DE ENSINO E PESQUISA  
ALBERT EINSTEIN

São Paulo, 25 de outubro de 2001.

Ref. CEP Nº 23/01

Ilmo.(a) Sr.(a)  
Dr. Freddy Golberg Eliaschewitz

Ref.: PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA

O Protocolo de Estudo Clínico intitulado "Transplante de ilhotas pancreáticas humanas em pacientes portadores de diabetes mellitus" que será conduzido no Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Israelita Albert Einstein sob a responsabilidade do(a) senhor(a) pesquisador(a) Dr. Freddy Golberg Eliaschewitz foi avaliado por este Comitê de Ética em Pesquisa e considerado **APROVADO**.

Para tal aprovação foram seguidas as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e 251/97, relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos. No presente Projeto foram devidamente enfatizados itens que correspondem aos objetivos do Estudo e seu racional; antecedentes científicos justificáveis; adequação do material e método; análise criteriosa dos riscos e benefícios; referência bibliográfica pertinente; responsabilidade do pesquisador na condução do Estudo, bem como a possibilidade de interrupção do estudo nos casos em que se verifiquem riscos aos voluntários.

Também foi analisado e considerado **APROVADO** o respectivo Termo de Consentimento Informado, uma vez que o mesmo segue os padrões normativos, apresentando linguagem acessível ao voluntário do Estudo.

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 251/97, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios semestrais sobre o andamento do Estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do Estudo. Solicitamos que este CEP seja informado quando da inclusão do primeiro paciente.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Pinus

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do  
Hospital Israelita Albert Einstein

## **ABSTRACT**

### **Analysis of multiples variables related to the cadaveric organ donor and the pancreatic islet isolation process**

The shortage of cadaveric organ donors relative to demand and the prioritization for donation for the whole organ pancreas transplantation became obstacles to obtaining organs for isolation of pancreatic islets both for research and islet transplantation. Few studies have evaluated whether there are characteristics related to donors and some stages of the isolation that can be risk factors for a better isolation of pancreatic islets. **Objective:** To analyze the relationship between the multiple variables related to the donor and the process of recovery / isolation of islets with the total number of equivalent isolated pancreatic islets (IEq). **Method:** We analyzed several variables in 74 islets isolations in relation to the outcome of IEq isolated at the end of the process: age, sex, BMI, ICU stay, use of drugs, smoking, hypertension, diabetes in 1st degree relatives, blood type, glucose, urea, creatinine, ALT, AST, amylase, pancreatic weight, appearance of the pancreas during the recovery, ischemia duration and lot of enzyme used in the pancreas digestion. **Results:** In univariate analysis, BMI ( $p < 0.01$ ) and macroscopic appearance of the pancreas during the capture ( $p = 0.04$ ) were the variables related to a greater number of IEqs. For the multivariate analysis, the only variable that showed statistical significance was the BMI ( $p = 0.0003$ ). Through the establishment of an ROC curve, BMI = 30 appeared as a cutoff point where the pancreas of donors with BMI > 30 generate more islets than donors with a BMI < 30 ( $p < 0.001$ ). **Conclusion:** The BMI of cadaveric pancreas donor is presented as the only variable statistically significant. The donor with a BMI > 30 is more likely to provide better isolation of pancreatic islets.

## **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

## Bibliografia Consultada

1. Rother ED, Braga MER. *Como elaborar sua tese: Estruturas e referências*. São Paulo, 2001.
2. Pereira WA. *Manual de Transplantes de Órgãos e Tecidos*. 3ªed. MEDSI/Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2004.
3. Fletcher RH, Fletcher SW. *Epidemiologia Clínica. Elementos Essenciais*. Tradução: Martins RM. 4ªed. Porto Alegre, 2006
4. DeCs – Descritores em Ciências da Saúde. São Paulo: Bireme, 1996
5. Oxford dictionary 8ªed. Oxford University Press, 2002