



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ANTONIO HENRIQUE DIANIN

**A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO APSCERR COMO
FERRAMENTA NO PROCESSO AVALIATÓRIO DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO
EM RATOS WISTAR: EXPERIMENTO COM INDOCIANINA VERDE**

CAMPINAS

2022

ANTONIO HENRIQUE DIANIN

**A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO APSCERR COMO
FERRAMENTA NO PROCESSO AVALIATÓRIO DA ISQUEMIA E REPEFUSÃO
EM RATOS WISTAR: EXPERIMENTO COM INDOCIANINA VERDE**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Thesis showed to the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas as part of the requirements to obtain the Doctor's Degree in Sciences.

ORIENTADORA: Prof^{fa}. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA FERREIRA BOIN

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO
ALUNO ANTONIO HENRIQUE DIANIN, E ORIENTADO PELA
Prof^{fa}. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA FERREIRA BOIN

CAMPINAS

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Patricia de Paula Ravaschio - CRB 8/6426

D542u Dianin, Antonio Henrique, 1986-
A utilização do robô R1T1 e do equipamento APSCERR como ferramenta no processo avaliatório da isquemia e reperfusão em ratos wistar : experimento com indocianina verde / Antonio Henrique Dianin. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Transplante de órgãos. 2. Robô R1T1. 3. Equipamento cirúrgico. 4. APSCERR. 5. Verde de indocianina. 6. Fígado - Transplante. 7. Robótica - Instrumentação. I. Boin, Ilka de Fátima Santana Ferreira, 1953-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: The novel use of R1T1 robot and APSCERR equipment as a tool in the evaluation process of ischemia and reperfusion in wistar rats : experiment with green indocyanine

Palavras-chave em inglês:

Organ transplantation

R1T1 robot

Surgical equipment

APSCERR

Indocyanine green

Liver - Transplantation

Robotics - Instrumentation

Área de concentração: Fisiopatologia Cirúrgica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin [Orientador]

Estela Regina Ramos Figueira

Ana Terezinha Guillaumon

Wu Feng Chung

Renato Ferreira da Silva

Data de defesa: 28-04-2022

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Cirurgia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-3539-4551>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5568310296477801>

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

ANTONIO HENRIQUE DIANIN

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA BOIN

MEMBROS

1. Prof^a. Dr^a. ILKA DE FÁTIMA SANTANA FERREIRA BOIN

2. Prof^a. Dr^a. ANA TEREZINHA GUILLAUMON

3. Prof. Dr. WU FENG CHUNG

4. Prof. Dr. RENATO FERREIRA DA SILVA

5. Prof^a. Dr^a. ESTELA REGINA RAMOS FIGUEIRA

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data: DATA DA DEFESA 28/04/2022

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a Project Company, por
sua filosofia, valores e forma de encarar a vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por seu imenso amor e por sempre estar ao meu lado.

Agradeço a minha família, que são todas as pessoas que amamos.

Ao meu pai, *in memoriam*, que teria se sentido orgulhoso por esta conquista.

A minha namorada por toda compreensão e apoio.

Agradeço aos companheiros de estudo e trabalho que me acompanharam durante esta caminhada.

Agradeço também a todos os professores e tutores que me orientaram por esta jornada.

A Project Company por todo apoio e incentivo sempre presente.

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin, por desde o início acreditar em meu potencial, por sua dedicação, atenção, carinho e por me guiar nesta jornada de construção de conhecimento.

Ao Departamento de Cirurgia, da Faculdade de Ciências da Medicina, da Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, na pessoa da Profa. Dra. Elaine Cristina de Ataíde e da Dra. Aurea Maria Oliveira da Silva, pela constante orientação, compreensão e apoio prestados durante toda esta caminhada.

Ao Laboratório de Hepatologia Cirúrgica e Transplante Hepático – Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental - NMCE do Departamento de Cirurgia, da Faculdade de Ciências da Medicina, da Unicamp, na pessoa da Dra. Gracinda de Lourdes Jorge e do Dr. Rodolfo dos Reis Tártaro, pela amizade, incentivo, apoio, dedicação e por sempre se demonstrarem de portas abertas aos nossos experimentos.

Ao Laboratório de Bioenergética do NMCE, na pessoa do Prof. Dr. Aníbal Eugenio Vercesi e do Prof. Dr. Roger Frigério Castilho que confiaram em nosso potencial.

Ao Laboratório de Anatomia Patológica Experimental do NMCE na pessoa do Prof. Dr. Konrandin Metze e da Rosana Trevisan, pela confecção das lâminas para avaliação histopatológica e na pessoa da Dra. Larissa Bastos Eloy da Costa pela sua assessoria durante as avaliações histológicas.

A Comissão de Pesquisa – Setor de Estatística da Faculdade de Ciências da Medicina, da Unicamp, na pessoa de Cleide Moreira Silva, pelo auxílio prestado.

Ao governo brasileiro por proporcionar um sistema de ensino de qualidade gratuitamente.

E a todos aqueles que de alguma forma estiveram próximos, me apoiando e incentivado.

A estas pessoas extraordinárias deixo minha gratidão e amizade.

EPÍGRAFE

True nobility is being superior of your former self.

RESUMO

Introdução: Durante o processo de transplante de órgãos, o tempo total de isquemia; as dificuldades técnicas da captação; a implantação; e a melhor compreensão quanto à conservação do órgão doado são algumas das dificuldades que vêm sendo superadas com o auxílio de novas tecnologias e melhores práticas. Não há na literatura referências que demonstrem a existência de um método direto de avaliação fotométrica utilizando o marcador Indocianina Verde - ICV no fígado para aumentar a eficácia de enxertos hepáticos captados, de forma a permitir a atuação proativa frente ao planejamento e execução do procedimento, visando o aumento da efetivação destas doações. Com base nesta problemática, busca-se inserir o 'Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação Automática com o Robô R1T1' – ASPCERR conectado ao robô R1T1 (ASPCERR/R1T1) para possibilitar a melhoria na agilidade do procedimento de doação de órgãos como um todo. **Objetivo:** O objetivo geral desta pesquisa foi descrever o processo de utilização do equipamento ASPCERR/R1T1 e sua aplicabilidade na detecção do marcador ICV nas alterações hepáticas seguidas de isquemia e reperfusão. **Método:** Este trabalho foi desenvolvido no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental – Unicamp. Durante experimentos em ratos Wistar, observou-se o fígado destes animais, sendo realizadas análises para avaliar a capacidade de se detectar a variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão, com a utilização do marcador ICV e sem a sua utilização, tanto a olho nu quanto com a utilização do equipamento APSCERR/R1T1. Por se tratar de um método inédito, a criação de uma forma padrão de análise onde seja possível comparar os resultados da variação de tonalidade de

cor no fígado durante a isquemia e reperfusão foi proposta. Os resultados da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado, durante a isquemia e reperfusão, foram analisados e comparadas com as análises bioquímicas, histológicas e mitocondriais.

Resultado: Como resultado desta pesquisa temos o aperfeiçoamento do software e do equipamento APSCERR/R1T1, sendo que se pode comprovar a precisão na capacidade de detecção do marcador indociana verde através do mesmo. Ficou constatado a incapacidade de, a olho nu, detectar variações macroscópicas no fígado provenientes da administração do marcador ICV. A utilização do marcado ICV mostrou-se útil para auxiliar na avaliação da capacidade de detectar a variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão através do equipamento APSCERR/R1T1. Foi possível criar um método de referência de forma a comparar os resultados da variação de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão através da utilização do equipamento APSCERR/R1T1, o que culminou na criação da Escala de Cores Padrão. Por sua vez, os resultados das análises bioquímicas, histológicas e mitocondriais apresentaram-se alinhados com os resultados observados pelo equipamento APSCERR/R1T1 durante os experimentos. Ainda, o marcador ICV apresentou-se de forma não nociva ao organismo de ratos Wistar durante esta pesquisa, observação comprovada através de exames bioquímicos, histológicos e de respiração mitocondrial. **Conclusão:** Foi possível realizar o aperfeiçoamento do equipamento APSCERR/R1T1 que gerou uma patente de invenção registrada junto ao INPI, bem como a demonstração e descrição de sua utilização e capacidades para detectar alterações hepáticas, gerando assim uma forma alternativa para uma rápida avaliação macroscópica do estado de saúde e grau de reperfusão do fígado.

Palavras-chave: Transplante de Órgãos; Robô R1T1; Equipamento Cirúrgico; APSCERR; Verde de Indocianina – ICV; Fígado – Transplante; Robótica - Instrumentação.

ABSTRACT

Introduction: During the organ transplantation process, the technical difficulties of capturing the organs; the total ischemia time; the transplant; and a better understanding of the conservation of the donated organ are some of the difficulties that have been overcome with the help of new technologies and best practices. There are no references in the literature that demonstrate the existence of a direct method of photometric evaluation using the marker Green Indocyanine - ICV in the liver to increase the efficiency of captured liver grafts, in order to allow a proactive action when planning and executing the procedure, aiming to increase the effectiveness of these donations. Based on this problem, we seek to insert the 'Automatic Surgical Portable Communication Equipment with the R1T1 Robot' - ASCPERR connected to the robot R1T1 (ASPCERR / R1T1) to enable the improvement in the agility of the organ donation procedure as a whole. **Objective:** The general objective of this research was to describe the process of using the ASCPERR / R1T1 equipment and its applicability in the detection of the ICV marker in liver changes followed by ischemia and reperfusion. **Method:** This work was developed at the Nucleus of Medicine and Experimental Surgery - Unicamp. During experiments on Wistar rats, the liver of these animals was observed, and analyzes were performed to assess the ability to detect the gradual variation of color tone in the liver during ischemia and reperfusion, using the ICV marker and without its use, both with the naked eye and with the use of the APSCERR / R1T1 equipment. As it is an unprecedented method, the creation of a standard form of analysis where it is possible to compare the results of the variation of color tone in the liver during ischemia and reperfusion was proposed. The results of

the gradual variation of color tone in the liver, during ischemia and reperfusion, were analyzed according to the standard form of analysis proposed and compared with biochemical, histological, and mitochondrial analyzes. **Result:** As a result of this research, we have improved the equipment and software of the APSCERR / R1T1 equipment, and it was possible to prove the accuracy in the detection capacity of the ICV marker through it. The inability to detect macroscopic variations in the liver from the administration of the ICV marker was found by the naked eye. The use of the ICV marker proved to be useful to assist in the evaluation of the ability to detect the gradual variation of color tone in the liver during ischemia and reperfusion using the APSCERR / R1T1 equipment. It was possible to create a reference method in order to compare the results of the variation of color tone in the liver during ischemia and reperfusion through the use of the APSCERR / R1T1 equipment, which culminated in the creation of the Standard Color Scale. In turn, the results of biochemical, histological, and mitochondrial analyzes were in line with the results observed by the APSCERR / R1T1 equipment during the experiments. In addition, the ICV marker was non-harmful to the organism of Wistar rats during this research, an observation proven through biochemical, histological, and mitochondrial breathing exams. **Conclusion:** It was possible to improve the APSCERR / R1T1 equipment that generated an invention patent registered with the INPI, as well as the demonstration and description of its use and capabilities to detect liver changes, thus generating an alternative way for a quick macroscopic evaluation of the health status and degree of liver reperfusion.

Keywords: Organ Transplant; R1T1 Robot; Surgical Equipment; APSCERR; Green Indocyanine – ICG; Liver – Transplant; Robotics - Instrumentation.

RESUMEN

Introducción: Durante el proceso de trasplante de órganos, las dificultades técnicas de captura; el tiempo total de isquemia; la implantación; y una mejor comprensión de la conservación del órgano donado son algunas de las dificultades que se han superado con la ayuda de las nuevas tecnologías y las mejores prácticas. No existen referencias en la literatura que demuestren la existencia de un método directo de evaluación fotométrica utilizando el marcador Indocyanina Verde - ICV en el hígado para aumentar la eficiencia de los injertos hepáticos capturados, con el fin de permitir una acción proactiva en la planificación y ejecución del procedimiento, con el objetivo de incrementar la efectividad de estas donaciones. Con base en este problema, buscamos insertar el 'Equipo Quirúrgico Portátil para Comunicación Automática con el Robot R1T1' - ASCPERR conectado al robot R1T1 (ASPCERR / R1T1) para permitir la mejora en la agilidad del procedimiento de donación de órganos en su conjunto. **Objetivo:** El objetivo general de esta investigación fue describir el proceso de uso del equipo ASCPERR / R1T1 y su aplicabilidad en la detección del marcador ICV en alteraciones hepáticas seguidas de isquemia y reperfusión. **Método:** Este trabajo fue desarrollado en el Núcleo de Medicina y Cirugía Experimental - Unicamp. Durante experimentos con ratas Wistar se observó el hígado de estos animales y se realizaron análisis para evaluar la capacidad de detectar la variación gradual del tono de color en el hígado durante la isquemia y reperfusión, utilizando el marcador ICV y sin su uso, ambos con a simple vista y con el uso del equipo APSCERR / R1T1. Al tratarse de un método sin precedentes, se propuso la creación de una forma estándar de análisis donde es posible comparar los resultados de la

variación del tono de color en el hígado durante la isquemia y la reperfusión. Los resultados de la variación gradual del tono de color en el hígado, durante la isquemia y la reperfusión, se analizaron de acuerdo con la forma estándar de análisis propuesta y se compararon con análisis bioquímicos, histológicos y mitocondriales. **Resultado:** Fruto de esta investigación, hemos mejorado el equipamiento y software del equipo APSCERR / R1T1, y es posible comprobar la precisión en la capacidad de detección del marcador indocyanina verde a través de él. La incapacidad para detectar variaciones macroscópicas en el hígado a partir de la administración del marcador ICV se encontró a simple vista. El uso del marcador ICV demostró ser útil para ayudar en la evaluación de la capacidad de detectar la variación gradual del tono de color en el hígado durante la isquemia y la reperfusión utilizando el equipo APSCERR / R1T1. Fue posible crear un método de referencia para comparar los resultados de la variación de tono de color en el hígado durante la isquemia y la reperfusión mediante el uso del equipo APSCERR / R1T1, que culminó con la creación de la Escala de Color Estándar. A su vez, los resultados de los análisis bioquímicos, histológicos y mitocondriales estuvieron en línea con los resultados observados por el equipo APSCERR / R1T1 durante los experimentos. Además, el marcador ICV no fue dañino para el organismo de las ratas Wistar durante esta investigación, una observación probada a través de exámenes bioquímicos, histológicos y de respiración mitocondrial. **Conclusión:** Se logró mejorar el equipo APSCERR / R1T1 que generó una patente de invención registrada ante el INPI, así como la demostración y descripción de su uso y capacidades para detectar alteraciones hepáticas, generando así una vía alternativa para una rápida evaluación macroscópica de el estado de salud y el grado de reperfusión hepática.

Palabras llave: Trasplante de Órganos; Robot R1T1; Equipo Quirúrgico;
APSCERR; ICV; Trasplante de hígado; Robótica - Instrumentación.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Número absoluto de transplantes no Brasil Fonte: Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO (19-20)	39
Figura 2: Fluxograma do processo de doação de órgãos no Brasil Fonte: Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (23)	41
Figura 3: Robô R1T1	51
Figura 4: Ilustração do Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação Automática com o Robô R1T1- APSCERR	54
Figura 5: Comparação entre imagens de um mesmo fígado fotografado utilizando o mesmo aparelho celular, porém em situações diferentes de luminosidade	55
Figura 6: Modelo RGB: Combinação das cores primárias vermelho, verde e azul na formação de novas cores	60
Figura 7: Representação microscópica do conjunto de pixels da imagem da tela de um monitor	63
Figura 8: Esquema do projeto piloto para detecção do marcador indocianina verde no fígado tanto a olho nu quanto com a utilização do dispositivo APSCERR/R1T1 (1ª e 2ª observações), e para a detecção da variação gradativa da tonalidade de cor no fígado durante a isquemia de 60 minutos e reperfusão de 60 minutos, com e sem a utilização do marcador indocianina verde, através do dispositivo APSCERR/R1T1 (3ª e 4ª observações)	71

Figura 9: Imagem dos lóbulos do fígado antes (esquerda) e após a administração do marcador ICV (direita) no grupo GI-ICVP captada pelo equipamento

APSCERR/R1T1 74

Figura 10: Imagem da visão a olho nu dos lóbulos do fígado antes (esquerda) e após a administração do marcador ICV (direita) no grupo GI-ICVP 74

Figura 11: Imagem da isquemia parcial do fígado captada pelo equipamento APSCERR/R1T1 demonstrando o contraste entre o lóbulo isquêmico (esquerdo) e lóbulos não isquêmicos (direito) do grupo isquêmico indocianina verde piloto - GI-ICVP 75

Figura 12: Espectro contínuo da escala de cores padrão com seus percentuais de 0 a 100% para a análise do grau de variação de cor no fígado quando observado com o equipamento APSCERR/R1T1..... 80

Figura 13: Escala de cores padrão para análise do grau de variação de cor no fígado quando observado com o equipamento APSCERR/R1T1 81

Figura 14: Fluxograma dos grupos do projeto experimental 86

Figura 15: Exemplo de variação de tonalidade de cor durante o tempo de **isquemia** observado no lóbulo isquêmico esquerdo (sinalizado) aos 2, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos através do equipamento APSCERR/R1T1 97

Figura 16: Exemplo de variação de tonalidade de cor durante o tempo de **reperusão** observado no lóbulo isquêmico esquerdo (sinalizado) aos 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 minutos através do equipamento APSCERR/R1T1 101

Figura 17: Exemplo do aspecto em mosaico observado nos lóbulos isquêmicos do fígado durante a fase de reperfusão com o equipamento APSCERR/R1T1102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Código hexadecimal e RGB para exemplificar a combinação das cores primárias vermelho, verde e azul na formação de novas cores	59
Tabela 2: Código hexadecimal e RGB para se observar a combinação das cores vermelho, verde e azul na formação da cor cinza	61
Tabela 3: Resultado observado na detecção do marcador ICV no fígado de ratos Wistar, segundo os observadores, comparando o uso do equipamento APSCERR/R1T1 com a observação a olho nu, após a administração do marcador ICV e antes do início da I60/R60 do grupo GI-ICVP	73
Tabela 4: Grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado de ratos Wistar, com e sem a administração do marcador ICV, durante a I/R, segundo os observadores, através do equipamento APSCERR/R1T1.....	78
Tabela 5: Códigos hexadecimais e RGB da tabela de cores padrão de referência e sua relação com o grau de isquemia e reperfusão observado no fígado através do equipamento APSCERR/R1T1.....	82
Tabela 6: Graus de variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico (esquerdo) durante o tempo de isquemia dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV, baseado nos graus de tonalidade de cor da Escala Padrão, através do equipamento ASPCERR	95
Tabela 8: Graus de variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico (esquerdo) durante o tempo de reperfusão dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e	

GI60/R60-ICV, baseado nos graus de tonalidade de cor da Escala Padrão, através do equipamento ASCCERR	99
---	----

Tabela 10: Análise descritiva apresentadas como mediana (mínimo-máximo) das análises bioquímicas dos grupos experimentais (GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV)	103
---	-----

Tabela 11: Análise descritiva da velocidade de respiração mitocondrial apresentados pela mediana (mínimo-máximo) com adição do ADP, OLIGOMICINA e FCCP em pmol.S-1.mg-1 e seus controles respiratórios ADP/OLIGOMICINA e FCCP/OLIGOMICINA.....	110
---	-----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Representação gráfica comparação da variação gradativa de tonalidade de cor com o espectro de cores da Escala Padrão dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV durante o tempo de isquemia através do equipamento ASPCERR	96
Gráfico 2: Representação gráfica comparação da variação gradativa de tonalidade de cor com o espectro de cores da Escala Padrão dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV durante o tempo de reperfusão através do equipamento ASPCERR	100
Gráfico 3: Dosagem da enzima aspartato aminotransferase - AST em UI/L pelo método enzimático cinético dos grupos experimentais (GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV)	104
Gráfico 4: Dosagem da enzima alanina aminotransferase - ALT em UI/L pelo método enzimático cinético dos grupos experimentais (GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV)	106
Gráfico 5: Distribuição de frequência do resultado do grau histológico das lesões hepáticas seguidos a I/R (isquemia/reperfusão)	108
Gráfico 6: Resultado da velocidade de respiração mitocondrial com adição de adenosina difosfato - ADP em pmol.S-1.mg-1	112
Gráfico 7: Resultado da velocidade de respiração mitocondrial com adição da OLIGOMICINA em pmol.S-1.mg-1	114

Gráfico 8: Resultado da velocidade de respiração mitocondrial com adição do FCCP em $\mu\text{mol.S}^{-1}.\text{mg}^{-1}$	116
Gráfico 9: Resultado da razão de controle respiratório mitocondrial (ADP/OLIGOMICINA)	118
Gráfico 10: Resultado da razão de controle respiratório mitocondrial (FCCP/OLIGOMICINA)	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
σ	Desvio Padrão
1080p	<i>1080 Horizontal Lines of Vertical Resolution</i>
3D	Três Dimensões
ABS	<i>Acrylonitrile Butadiene Styrene</i>
ABTO	Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos
Ah	Amper Hora
ADP	Adenosina Difosfato
ALT	Alanina Aminotransferase
APSCERR	Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação Automática com o Robô R1T1
APSCERR/R1T1	Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação Automática com o Robô R1T1 conectado ao Robô R1T1
AST	Aspartato Aminotransferase
ARM	Advanced RISC Machines
ATP	Adenosina Trifosfato

AVC	<i>Automatic Voltage Control</i>
B	Bites
Bit	<i>Binary Digit</i>
Bitrate	Número de bits
Ca	Cálcio
CD	<i>Compact Disc</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CEMIB	Centro Multidisciplinar para Investigações Biológicas
Chipset	<i>Set of electronic components in an integrated circuit</i>
cm	Centímetro
CMOS	Complementary metal-oxide-semiconductor
Complexo I	Complexo Um Da Cadeia Transportadora De Elétrons
Complexo II	Complexo Dois Da Cadeia Transportadora De Elétrons
Complexo III	Complexo Três Da Cadeia Transportadora De Elétrons
Complexo IV	Complexo Quatro Da Cadeia Transportadora De Elétrons
CPU	<i>Unidade Central de Processamento</i>
CRM	Conselho Regional de Medicina
CTE	Cadeira Transportadora de Elétrons

DC	<i>Direct Current</i>
DDT	Dithiothreitol
dL	Decilitro
EGTA	Ácido Egtázico
ERP	<i>Enterprise Resource Planning</i>
FALC	Fosfatase Alcalina
FCCP	Carbonylcyanide p-trifluormetoxifenilidrazona
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
Full HD	<i>Full High Definition</i>
g	Grama
G	Giga
G-ICV	Grupo Indocianina Verde
GC	Grupo Controle
GGT	Gama Glutamiltransferase
GLI	Glicose
GI-ICVP	Grupo Isquêmico Indocianina Verde Piloto
GI-P	Grupo Isquêmico Piloto

GI15/R60-ICV Grupo Isquemia de 15 min e Reperfusão de 60 min com administração da Indocianina Verde

GI30/R60-ICV Grupo Isquemia de 30 min e Reperfusão de 60 min com administração da Indocianina Verde

GI60/R60-ICV Grupo Isquemia de 60 min e Reperfusão de 60 min com administração da Indocianina Verde

HE Hematoxilina e Eosina

HC Hospital de Clínicas

HDR *High Dynamic Range*

Hz Hertz

I/R Isquemia e Reperfusão

ICV ICV

INPI Instituto Nacional de Propriedade Intelectual

IP Protocolo de Internet

k Quilo

K Potássio

Kg Quilograma

L Litro

LAP Laboratório de Anatomia Patológica

LDC	<i>Large Digital Camera definition</i>
LED	<i>Light-Emitting Diode</i>
LPC	Laboratório de Patologia Clínica
m	Milímetros
mg	Miligrama
min	Minuto
mEq/L	Miliequivalentes Por Litro
mg/dl	Miligramas Por Decilitro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MP	<i>Megapixel</i>
NHI	<i>National Health Institute</i>
n	<i>Nano</i>
NA	Sódio
NMCE	Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental
PCB	<i>Printed Circuit Board</i>
Pixel	<i>Physical Point In a Raster Image</i>
QPS	Quadros Por Segundo

RCR	Razão do Controle Respiratório
RISC	<i>Reduced Instruction Set Computing</i>
RJ	Rio de Janeiro
rpm	Rotações Por Minuto
SP	São Paulo
SPOT	Serviço de Procura de Órgãos e Tecidos
UI/L	Unidade Internacional Por Litro
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
USA	Estados Unidos da América
USB	<i>Universal Serial Bus</i>
V	Voltage
VoIP	Voz Sobre IP
WHO	<i>World Health Organization</i>
WIFI	<i>Wireless Fidelity</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	34
1.1 Histórico do Transplante de Fígado	37
1.2 O Processo de Doação de Órgãos.....	40
1.3 Indocianina Verde - ICV	43
1.4 Isquemia, Reperusão e Exames	47
1.5 O Robô R1T1	50
1.5.1 Ensino Através do R1T1.....	52
1.5.2 Conexão com Equipes Externas	52
1.5.3 Integração com o ERP, Prontuários e Sistemas Hospitalares.....	52
1.5.4 Gravação de Procedimentos	53
1.6 O Equipamento APSCERR Conectado ao Robô R1T1.....	53
1.7 Sobre a Análise de Cores em Sistemas de Computador	57
1.8 Justificativa.....	64
2. OBJETIVO	65
3. MÉTODO	67
3.1 Local da Pesquisa	67
3.2 Comitê de Ética	68
3.3 Procedimento Cirúrgico Padrão	68

3.4 Projeto piloto para detecção de alteração de tonalidade de cor no fígado com ou sem a administração do marcador ICV	70
3.4.1 Detecção do marcador ICV no fígado tanto a olho nu quanto com a utilização do dispositivo APSCERR/R1T1.....	72
3.4.2 Detecção da variação gradativa da tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão, com e sem a utilização do marcador ICV, através do dispositivo APSCERR/R1T1.....	75
3.4.3 Criação da escala de cores padrão	79
3.5 Projeto experimental	83
3.5.1 Descrição da comparação da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão com a escala de cores padrão	87
3.6 Exames Laboratoriais.....	89
3.6.1 Avaliação bioquímica.....	90
3.6.2 Avaliação histológica.....	90
3.6.3 Avaliação da respiração mitocondrial.....	91
3.7 Análise Estatística	93
3.8 Fomento	93
4. RESULTADO.....	94
4.1 Resultados do Equipamento APSCERR/R1T1	94
4.1.1 Resultado da comparação da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado com a escala de cores padrão durante o tempo de isquemia	94

4.1.2 Resultado da comparação da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado com a escala de cores padrão durante o tempo de reperfusão	98
4.1.3 Avaliação macroscópica observada na tela do APSCERR/R1T1	102
4.2 Resultados dos Exames.....	103
4.2.1 Resultado bioquímico	103
4.2.2 Resultado histológico	108
4.2.3 Resultado da respiração mitocondrial	109
4.2.4 Publicações e demais resultados	121
5. DISCUSSÃO.....	124
1.1. Limitações Desta Pesquisa	135
1.2. Perspectivas.....	136
6. CONCLUSÃO	138
7. REFERÊNCIAS	140
8. APÊNDICES	168
Apêndice 1 - Descrição da patente de invenção	168
Apêndice 2 - Capa do livro publicado: EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO CIRÚRGICO PORTÁTIL AUTOMÁTICO COM O ROBÔ R1T1 – APSCERR/R1T1	185
9. ANEXOS.....	186
Anexo 1 - Revista da propriedade industrial Nº 2434 de 29/08/2017 p477	186
Anexo 2 - Parecer consubstanciado do CEUA, nº 4303-1	187
Anexo 3 - Parecer consubstanciado do CEP, nº 47966515.0.0000.5404	188

Anexo 4 - Declaração de publicação do artigo 'A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO ASPCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO'	194
Anexo 5 - Declaração de publicação do livro 'EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO CIRÚRGICO PORTÁTIL AUTOMÁTICO COM O ROBÔ R1T1 – APSCERR/R1T1'	195
Anexo 6 - Declaração de publicação do artigo 'RESULTS OF GREEN INDOCYANINE IN THE USE OF THE R1T1 ROBOT AS AID IN THE PRE-OPERATIVE PROCESS OF HEPATIC ORGAN TRANSPLANT: EXPERIMENT IN WISTAR RATS'	196
Anexo 7 - Declaração de apresentação do trabalho 'O POTENCIAL DO EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO PORTÁTIL CIRÚRGICO AUTOMÁTICO COM ROBÔ R1T1 – ASPCERR: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA VIABILIDADE'	197
Anexo 8 - Declaração de apresentação do trabalho 'A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO'	198

1. INTRODUÇÃO

Conforme a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos – ABTO, em 2019, o Brasil ficou na segunda posição na classificação de países em quantidade absoluta de transplantes realizados, contudo a lista de espera para a realização de transplantes continua a crescer a cada ano (1).

Desde o início do desenvolvimento das técnicas de transplantes, várias complicações são abordadas para a implantação efetiva deste exercício terapêutico, principalmente em relação a transplantação de órgãos sólidos, a sua doutrina e o seu treinamento.

Os desafios técnicos da captação; o tempo total admitido na isquemia, que é o tempo total em que o órgão se sustenta de forma viável, a partir do interrompimento da circulação sanguínea durante a captação do órgão até o seu transplante; a implantação; e o melhor entendimento referente à preservação do órgão doado são algumas das adversidades enfrentadas que têm sido sobrepujadas com o advento de novas tecnologias e aperfeiçoamentos práticos. Hoje contamos com drogas imunossupressoras e protocolos de imunossupressão que apresentam menos efeitos colaterais, além do desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas e a adoção da tecnologia robótica que, mais recentemente, vem sendo implementada de forma progressiva nos tratamentos médicos, o que apresenta alguns dos inúmeros passos dados em direção ao sucesso dos transplantes de órgãos como uma forma de tratamento cada vez mais efetiva (2).

O tempo total entre a captação até o transplante efetivo do órgão coletado, influência de forma direta nos resultados obtidos com este procedimento cirúrgico. Em certos casos específicos, como o transplante de córnea, o procedimento pode ser realizado dias após o atestado de óbito, desde que o órgão seja mantido em condições adequadas. Contudo, em outras situações como o transplante de coração, o procedimento deve ser realizado dentro do intervalo de poucas horas (3).

Conforme a pesquisa apresentada por Stahl et al, o intervalo total viável da isquemia fria varia de acordo com o tipo de órgão a ser transplantado e tem impacto de forma direta na sobrevida do receptor (4-5).

Deste modo, uma grande acuidade apresentada neste estudo, é ressaltar a premissa de que o tempo se torna um fator de restrição, com importância primordial para um próspero transplante de órgão. Desde o início do procedimento de doação de órgãos, todas as atribuições relacionadas ao mesmo, desde a captação até o seu implante, precisam ser sincronizadas e realizadas dentro do menor intervalo factível (6).

Ainda hoje, mesmo com todo este esforço científico e avanços tecnológicos, assim como no princípio, os profissionais da saúde ainda enfrentam múltiplos complicadores relacionados a questão de uma ágil obtenção e transplante de órgãos.

O tema da doação de órgãos se apresenta em pauta tanto em questionamentos da sociedade em geral quanto em debates formais entre profissionais da saúde. Não limitando-se ao procedimento cirúrgico, questões envolvendo os aspectos legais que respaldam a doação, as atividades dos

profissionais da saúde, aspectos éticos e morais, se fazem necessários ao conhecimento público de forma a expandir o conhecimento ao redor da doação de órgãos.

Mesmo com o aumento de profissionais qualificados e hospitais adequadamente equipados, ainda se faz importante ressaltar a problemática questão da deficiência atual no sistema de obtenção e fornecimento dos órgãos sinalizada por múltiplos pesquisadores (6-9).

Por sua vez, decorrente ao fato do Brasil ser um país de dimensões continentais, o desenvolvimento e a consolidação de redes colaborativas e integradas de forma a prover apoio à área da saúde à distância se tornam essenciais. Assim, diversos recursos tecnológicos se fazem disponíveis para serem aplicados com o escopo da telemedicina, sendo que a transferência de informações em tempo real e a interligação dos profissionais através da comunicação por voz, vídeo e mensagens de texto por vir a ser de grande ajuda para os procedimentos de transplantes (10-11).

Ainda, o uso da inteligência artificial na medicina se trata da utilização de computadores que analisam um grande volume de dados e seguem algoritmos definidos por especialistas na área, sendo que estes sistemas são capazes de proporem soluções para problemas da saúde, e se aperfeiçoarem pelo seu próprio funcionamento. A inteligência artificial possui diversas definições, e uma delas trata-se do desenvolvimento de sistemas de computação inteligentes, que são aptos a realizarem tarefas por si só, sem o recebimento de instruções diretas por seres humanos, o que por sua vez dentro desta definição, pode-se citar os robôs que estão sendo cada vez mais utilizados na área médica (12).

Assim, diversas outras ações ainda se fazem necessárias para se superar a atual disparidade entre a cifra absoluta de doentes em lista, frente ao montante de transplantes efetivos, o qual o processo de doação de órgãos se apresenta como uma etapa primordial para a redução de tal diferença.

Por fim, as concepções relacionadas a esta pesquisa têm o potencial para representarem um valioso papel no avanço da performance das atividades da área médica, existindo inúmeras perspectivas para a sua aplicação, tanto na conjuntura de agilidade de processos e simplificação dos mesmos, quanto no incremento da satisfação dos envolvidos, incluindo a perspectiva de atenuação de custos dos procedimentos.

1.1 Histórico do Transplante de Fígado

A cirurgia do transplante de fígado começou seus estudos em 1955, por Welch, sendo um transplante ectópico, e em 1958 onde Francis Moore relatou a técnica do transplante ortotópico de fígado em cães. Os primeiros transplantes de fígado são datados de 1956, realizado por Cannon, e por Starzl et al em 1963. Em 1964 ocorreu o primeiro transplante no Brasil, este foi um transplante renal realizado no Hospital Servidores do Estado, no Rio de Janeiro. Hoje, dentre os procedimentos de transplante, o transplante hepático é considerado como sendo o mais complexo da cirurgia contemporânea, uma vez que nenhum outro procedimento é capaz de interferir em tantas funções no organismo humano (13-14).

Até a década de 70, o número de transplantes de fígado estava abaixo de duzentos, e a sobrevida era de apenas 20% em dois anos. Foi somente com a introdução e inserção do fármaco Ciclosporina que a perspectiva dos transplantes melhorou, aumentando assim a sobrevida. A partir deste fato, o transplante de fígado passou a ser mais constante nos grandes centros médicos, mas ainda assim, um dos mais minuciosos dos transplantes (15).

Em 1983, o número de transplantes realizados passou para cerca de 500. Neste ano Starzl conseguiu provar as autoridades americanas a melhora dos resultados dos transplantes, sugerindo que este passasse de procedimento experimental para atitude terapêutica, obtendo aprovação pelo National Health Institute – NHI. Hoje, o transplante é considerado um tratamento eficaz nas hepatopatias crônicas (16-17).

O transplante de fígado vem sendo usado em larga escala como forma de terapia para doenças terminais, sendo que entre 1985 e 2011 foram realizados cerca de cem mil transplantes hepáticos, dentre os quais trinta mil sobreviveram mais de cinco anos, e dezesseis mil mais de dez anos após o procedimento. O avanço tecnológico e aprimoramento de técnicas cirúrgicas, o tempo da cirurgia e recuperação dos pacientes foram otimizados, passando de uma duração de 17 a 24 horas nos primórdios, para uma média de 5 horas (16).

Foi o avanço das técnicas cirúrgicas e de preservação de órgãos, seguidos do conhecimento mais profundo de imunologia e utilização de fármacos imunossupressores que permitiram também o aumento da sobrevida, mas, sobretudo, da qualidade de vida dos transplantados. Este conjunto de técnicas cirúrgicas

avanzadas, melhoras na imunologia, permitiram estudos e aprimoramentos para se chegar em um avanço dos resultados dos transplantes hepáticos (18).

Partindo do contexto histórico, um aspecto importante a se conhecer sobre o transplante de fígado são as indicações do procedimento, uma vez que conforme o caso clínico, variam-se os procedimentos das etapas pré-operatórias, operatórias e pós-operatórias. As principais indicações para este procedimento podem agrupar-se em quatro grandes categorias: doença metabólica do fígado, doença hepática não progressiva de reconhecida morbi-mortalidade, doença hepática primária com evolução progressiva e insuficiência hepática fulminante de etiologia conhecida ou desconhecida (15).

Dadas as indicações, os números dos transplantes de fígado no Brasil vêm crescendo segundo as publicações trimestrais da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO, no Registro Brasileiro de Transplantes, canal oficial da ABTO, conforme apresentado na figura abaixo (19-20).

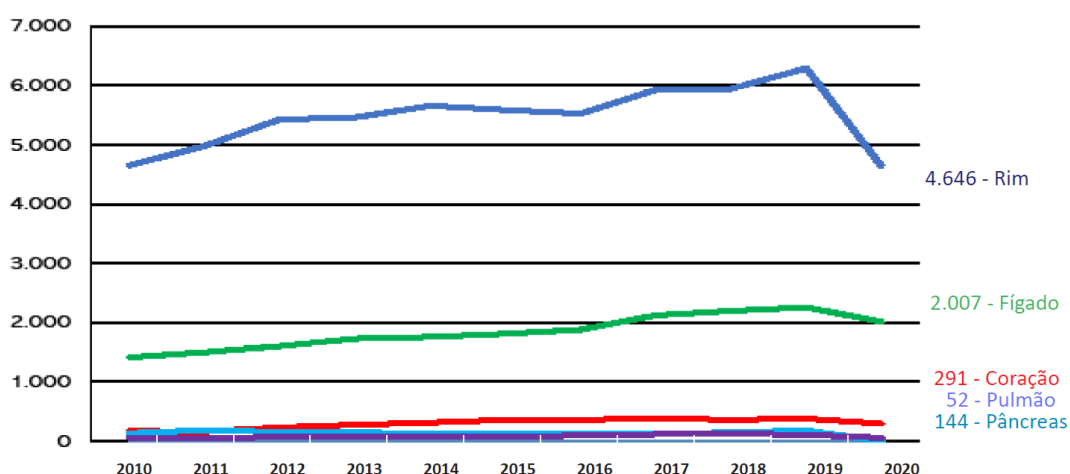


Figura 1: Número absoluto de transplantes no Brasil

Fonte: Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO (19-20)

Com crescente tamanho do número de transplantes, novas técnicas, procedimentos, materiais, máquinas, são cada vez mais necessários, aprimorando resultados e tornando os transplantes cada vez mais eficazes e efetivos, seja no pré-operatório, no operatório, ou no pós-operatório. Como o avanço da tecnologia em todas as áreas da ciência destaca-se nos últimos anos o sucesso da implementação de robôs nos processos cirúrgicos para os mais diversos tipos de assistência (21-22).

1.2 O Processo de Doação de Órgãos

O procedimento de transplante se faz necessário para restabelecer condições de saúde debilitadas e crônicas. Isso é obtido na maioria dos casos, e, muitas vezes, de formas extraordinárias, podendo proporcionar melhora do estado geral, ganho de proteína muscular e ganho de peso, dando visível aspecto de melhora aos pacientes. Isso ocorre graças a equipes multidisciplinares necessárias para o transplante, incluindo médicos de diferentes especialidades, enfermeiros, fisioterapeutas, psicólogos, biólogos e nutricionistas (14).

O fluxograma do procedimento de doação de órgãos está representado esquematicamente através da figura abaixo:

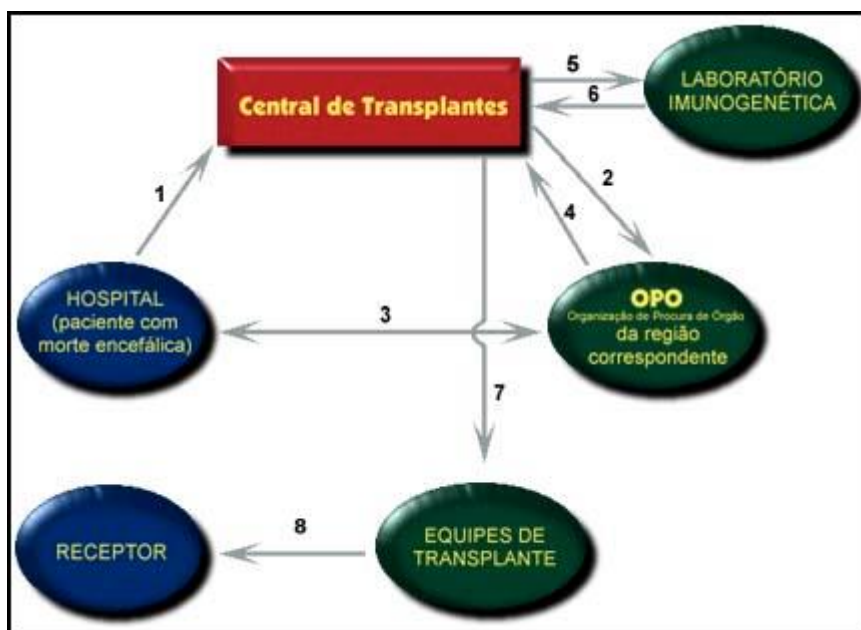


Figura 2: Fluxograma do processo de doação de órgãos no Brasil

Fonte: Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (23)

Para um maior entendimento sobre o quadro hospitalar envolvendo este trabalho, descreve-se abaixo as etapas do processo de doação de órgãos, conforme a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos – ABTO e a Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo (23-26).

- 1º Passo - Identificação do potencial doador: O procedimento de doação de órgãos começa com o reconhecimento de um paciente com morte encefálica, o que necessariamente deve observar todas as diretrizes da resolução nº 1.480/97 do CFM, para todos os pacientes com suposição de morte encefálica, independente da perspectiva de doação de órgãos. Logo após a constatação de um paciente com morte encefálica, o hospital onde encontra-se o doador notifica a Central de Transplante.

- 2º Passo - Notificação: No estado de São Paulo, a captação de órgãos ocorre com caráter regionalizado, desta forma a Central de Transplantes repassa a notificação para o Serviço de Procura de Órgãos e Tecidos - SPOT, que por sua vez cobre a região do hospital notificador.

- 3º Passo - Avaliação: No decorrer de todo o processo de sustentação do potencial doador deve-se buscar a estabilidade hemodinâmica, de forma a garantir a qualidade e viabilidade dos órgãos suscetíveis a doação. Assim, uma vez realizada a notificação, um profissional da SPOT conduz a avaliação do doador, da sua história clínica, das sorologias para afastar moléstias infecciosas, da viabilidade dos órgãos e colhe os testes de compatibilidade com possíveis receptores. Nesta fase, a família é comunicada a respeito da possível doação, e caso a mesma seja autorizada, a doação se torna efetiva.

- 4º Passo - Informação do doador efetivo: A SPOT comunica à Central de Transplantes (HC-Unicamp) sobre a viabilidade da doação e sua efetivação.

- 5º Passo - Seleção dos receptores: Os receptores são cadastrados na Lista Única de Receptores do Sistema Nacional de Transplantes do Ministério da Saúde. Na ocasião em que a SPOT comunica à efetividade de um doador, a Central Estadual de Transplante emite uma lista de receptores compatíveis com o doador. Sendo que, no caso da doação de rins, uma nova seleção por compatibilidade imunológica deve ser realizada.

- 6º Passo - Resposta do laboratório de Imunogenética: Com a efetivação dos testes de compatibilidade imunológica, o laboratório envia a lista com os receptores compatíveis para a Central de Transplante.
- 7º Passo - Equipes de transplante: Agora com a listagem definitiva de transplantes em mãos, a Central de Transplantes comunica a equipe de transplante sobre a doação. Sendo que cabe agora à equipe transplantadora a decisão sobre a utilização do órgão doado.
- 8º Passo - O transplante: Na ocorrência da aprovação pela equipe de transplante, a captação e o transplante são realizados. Desta forma, a captação ocorre no hospital em que o doador está sendo mantido, sendo que após o término da captação as equipes retornam para seus hospitais de origem, para então realizarem o transplante. Assim, o corpo do doador é entregue dignamente recomposto à família, sendo fornecida toda a orientação necessária a mesma.

1.3 Indocianina Verde - ICV

O ICV é uma tricarbocianina fluorescente, inerte, solúvel em água, com uma ligação a proteínas perto de 95% (principalmente, alfa1, beta-lipoproteínas e albumina). Em indivíduos saudáveis, o ICV mostra uma alta taxa de extração hepática, geralmente acima de 70%. Sendo que sua toxicidade é muito baixa e muito raros são os seus efeitos adversos. A presença de iodo na molécula de ICV constitui uma contraindicação para seu uso em caso de tireotoxicose e alergia ao iodo (uma reação devido à liberação de histamina não imunológica) (27-29).

Após a injeção intravenosa de ICV, está se liga quase que completamente às proteínas e é distribuída no sangue. A extração do ICV ocorre quase exclusivamente pelo fígado, com captação seletiva através da membrana plasmática sinusoidal por 1 B3 e polipeptídios co-transportadores de taurocolato de sódio. O ICV é excretado inalterado e quase completamente (97%) na bile em uma forma não conjugada. A ausência de metabolismo e de recirculação entero-hepática apoia a correlação entre a eliminação de ICV cinética e função hepática, sendo a captação sinusoidal (relevante em humanos) e a excreção canalicular os dois processos principais envolvidos na depuração hepática do ICV (27-28, 30-31).

A administração de ICV é aprovada pela ANVISA sendo que esta vem sendo cada vez mais utilizada como uma forma de avaliação das funções do fígado em caso de cirurgia hepática de grande porte (cirurgia de ressecção e transplante de fígado). Seu uso é seguro apresentando eventos adversos em menos de 1 em cada 40.000 pacientes, compreendendo principalmente reações de hipersensibilidade (27-35).

Desde o início dos anos 60, a cinética de eliminação de ICV vem sendo usada para medir o volume sanguíneo e o débito cardíaco, enquanto que recentemente, existe um maior interesse em seu uso para análise de parâmetros de depuração da ICV em uma avaliação dinâmica da função hepática em configurações cirúrgicas (27, 36-38).

O ICV possui uma característica fluorescente quando iluminado por uma fonte de laser específica (infra vermelho) e observados com cameras especiais para sua detecção. Tal característica tem o potencial de aprimorar a visualização de

estruturas biológicas e tem sido utilizada no auxílio de cirurgias na identificação das vias biliares, na anatomia e a avaliação vascular em cirurgia abdominal, na demarcação dos limites do segmento hepático e na identificação de tumores hepáticos, sendo que a pesquisa nesta última área ainda se encontra em caráter exploratório (39-48).

Embora novos trabalhos analisando o comportamento do ICV na identificação de tumores apresentem resultados promissores, ainda não há diretrizes aceitas para diferenciar lesões malignas, sendo que vascularização intrínseca, o comportamento nodal na fase portal e o momento da injeção intravenosa podem modificar a distribuição final do ICV nos tumores hepáticos (49-53).

Nesse cenário dinâmico, a cirurgia com o uso de ICV tem se demonstrado cada vez mais útil devido ao avanço de diferentes fontes de informação e tecnologias integradas em uma mesma plataforma. Um exemplo de tais avanços é o software para visualização de luz infravermelha, FireFly® (Califórnia, Estados Unidos) que permite uma visualização das estruturas anatômicas e é integrado ao sistema de braços robóticos Da Vinci Si® (Califórnia, Estados Unidos) podendo ser ativado no console do cirurgião (54-57).

De acordo com Marino *et al.*, a aplicação de ICV, em cirurgias com braços robóticos guiados com câmera, reduziu a perda de bile pós-operatória, a insuficiência hepática pós-hepatectomia e a taxa de readmissão quando comparado com pacientes submetidos à ressecção hepática padrão sem administração do ICV (58).

Van Manen *et al.*, realizou uma revisão sistemática com um apanhado de 945 artigos sobre o uso do ICV, destes, 314 (33%) estavam relacionados ao

mapeamento de linfonodo, 313 (33%) a detecção de tumores, 185 (20%) relacionados a cirurgia abdominal e 133 (14%) a detecção de estruturas vitais como o ducto biliar e o ureter. Os autores concluíram que o uso do ICV é seguro e amplamente avaliado em imagem de fluorescência, sendo que alvos tumorais mais específicos podem ser melhor avaliados e utilizados na prática clínica (59).

A determinação padrão de liberação de ICV depende de uma complexa análise fotométrica de múltiplas amostras de sangue arterial obtidas em um curto espaço de tempo após sua administração intravenosa, sendo este o padrão ouro usado para fins de pesquisa atualmente. Porém, uma nova tendência de dispositivos de densitometria de corante de pulso transcutâneo não invasivo (PDD) capazes de medir as concentrações de ICV estão aumentando seu uso na prática clínica. Entre eles estão o LiMon (Pulsion Medical System, Alemanha) e o DDG 2001 (Nihon Kohden, Japão), sendo a eliminação de ICV expressa como sendo a taxa de depuração de plasma de ICV em mg/L (27-28, 30, 60-62).

Estudos recentes utilizando parâmetros cinéticos do ICV com tais aparelhos apresentam bons resultados na definição funcional da reserva hepática em doentes cirróticos e não cirróticos submetidos à ressecção cirúrgica, bem como na predição de morbidade e mortalidade dos mesmos (27-29, 33, 63-65).

Trabalhos relacionados a lesão de isquemia/reperfusão utilizando aparelhos PDD demonstraram que o ICV refletiu o grau de lesão de reperfusão e foi um bom marcador inicial da função primária do enxerto (63-66).

Segundo Plevris *et al.*, todos os pacientes analisados através de PDD, com alta depuração do ICV se recuperaram após o transplante de fígado e permaneceram

bem até 3 meses de acompanhamento. Quatro pacientes tiveram uma baixa taxa de depuração do ICV, onde três foram transplantados novamente por falha do enxerto dentro de 3 dias após o transplante. A depuração de ICV também foi significativamente correlacionado com a alanina aminotransferase e o tempo de protrombina 24 horas após o transplante ($r = -0,35$, $p < 0,02$ e $r = -0,4$, $p < 0,0077$) (66).

Gonzalez *et. al.*, avaliaram o grau da lesão de isquemia e reperfusão, utilizando o ICV por densitometria de pulso, através do sistema Limon e verificaram que aparelhos PDD podem ser utilizados para se avaliar os graus de lesão de isquemia e reperfusão em doadores marginais (67).

Como vimos inúmeros estudos abordam a utilidade do ICV, o que cada vez mais abrirá o caminho para a adoção da cirurgia guiada por imagem, sendo que tipos diferentes de processamento de imagem e vídeo podem ser uma das principais áreas para o desenvolvimento de pesquisas conexas ao uso do ICV no estudo de isquemia e reperfusão.

1.4 Isquemia, Reperfusão e Exames

A isquemia é a redução ou interrupção do fluxo sanguíneo para alguma área do organismo, sendo que a mesma pode ser gerada por vasoconstrição ou obstrução arterial. Logo, a reperfusão se trata do reestabelecimento do fluxo sanguíneo para a região na qual efetuou-se a isquemia (66-78).

A intervenção cirúrgica de isquemia e reperfusão - I/R se faz imperativa no cotidiano dos cirurgiões, onde tal procedimento é vastamente empregado durante

transplantes e operações nas quais requerem a interrupção do fluxo sanguíneo ao órgão. Em sua pesquisa, Pringle descreve a técnica cirúrgica de clampeamento do pedículo hepático, manobra muito empregada em grandes cirurgias hepáticas e transplantes, sendo que a disfunção do enxerto é apontada como um fator importante de causa de morbidade e mortalidade pós-operatória (78-102).

As lesões de I/R do fígado ocorrem durante a reperfusão, após ressecção hepática ou transplante com influxo hepático eclodido por pinçamento da tríade portal (manobra de Pringle) (79, 90-94, 103-106). As lesões hepáticas causadas por I/R podem ser detectadas através de exames bioquímicos, histológicos, e de respiração mitocondrial do fígado (95-96, 101-102, 107-112).

Nos exames bioquímicos, as análises de lesões de I/R são detectadas por meio das enzimas séricas liberadas após o rompimento celular hepático, passando para o sistema circulatório, fornecendo assim dados clínicos de magnitude, extensão e curso (crônica ou aguda) da lesão. Estes são considerados marcadores sensíveis de dano hepatocelular, sendo observadas antes ou logo após a intervenção cirúrgica, estando diretamente relacionada com o tempo total de hipóxia sofrido pelo órgão e da reperfusão do parênquima remanescente (108-110, 113-117).

As transaminases, aspartato aminotransferase - AST e alanina aminotransferase - ALT, em concentrações elevadas, apresentam-se como marcadores de lesões do fígado e constantemente são empregadas na atividade clínica para avaliação de doentes e alterações da permeabilidade da membrana plasmática (102, 108-110).

Nos exames histológicos, a análise microscópica das células é utilizada para a detecção de possíveis alterações ou lesões, com o objetivo de informar a natureza, a extensão, a gravidade, a intensidade, e a evolução de algum problema detectado na amostra, além de sugerir ou confirmar a causa do mesmo (118-123).

A maioria dos cortes histológicos são submetidos a uma determinada coloração para permitir seu estudo microscópico. Com esta finalidade, foram desenvolvidas inúmeras soluções de corantes e de misturas de corantes, sendo que as misturas mais empregadas são as que melhor distinguem os vários componentes das células e da matriz extracelular. Por sua vez, uma das técnicas mais utilizadas é a que reúne dois corantes chamados hematoxilina e eosina, sendo a sua coloração denominada abreviadamente de HE (118-123).

A hematoxilina é um corante básico de cor azul-púrpura, que tem atração a substâncias ácidas. Estas substâncias ácidas são coradas pela hematoxilina, e obtêm a designação de basófilas, ou seja, que fixam corantes básicos. Já a eosina, contrariamente à hematoxilina, tem característica ácida apresentando cor vermelha, atraindo compostos básicos e sendo conhecidas como acidófilas, ou seja, que fixam corantes ácidos (118-123).

As mitocôndrias são organelas responsáveis pela geração da maior parte da energia celular, através do procedimento chamado de respiração celular que utiliza a cadeia transportadora de elétrons - CTE presente na membrana mitocondrial interna. De acordo com o tipo da célula, há variação na quantidade, na forma, no tamanho e na distribuição das mitocôndrias (91, 100, 124-129).

As mitocôndrias têm designações essenciais, dado que passam por várias modificações e contribuem para o real dano ocasionado ao órgão durante a fase de I/R. Desta forma, a atividade de respiração mitocondrial e a formação de radicais livres são acatados como sendo bons parâmetros de avaliação do grau de lesão de I/R no fígado (91, 95, 98, 100, 107, 124-126, 128, 130-136).

Nos exames de respiração mitocondrial, quando adicionado ADP observa-se a fosforilação oxidativa durante a respiração no estado III da CTE (91, 100, 137). No estado IV da CTE, observa-se a geração e manutenção do potencial da membrana mitocondrial quando adicionado oligomicina (95, 100, 137). Quando estimulado pelo FCCP, ocorre a desacoplação da ATP-sintase interrompendo a síntese de adenosina trifosfato – ATP e despolarizando o potencial da membrana mitocondrial interna (95, 137). Nos exames de respiração mitocondrial também se observa o controle respiratório, que é a razão entre os estados III e IV: ADP/oligomicina e FCCP/oligomicina (91, 100, 137).

1.5 O Robô R1T1

A empresa brasileira Project Company, desenvolvedora do robô R1T1, apresenta a utilização do mesmo com sucesso em diversas atividades relacionadas ao setor da saúde. Dentre as principais vantagens contempladas com a sua implementação pode-se citar a maior precisão e credibilidade durante a tomada de decisões, a agilidade e praticidade de sua utilização, a modernização dos processos, a diminuição do tempo total das cirurgias, a melhora na qualidade dos serviços

prestados e a maior confiabilidade e ausência de falhas em seus sistemas quando comparados a sistemas tradicionais de computação (138-139).



Figura 3: Robô R1T1

Fonte: Project Company (138)

Com o desígnio de proporcionar uma maior compreensão sobre as várias atividades efetivadas com o auxílio deste equipamento, relata-se abaixo alguns dos casos de aplicabilidade do robô R1T1 junto a área da saúde da Unicamp.

1.5.1 Ensino Através do Robô R1T1

A educação no ramo médico é um ponto crucial, neste sentido o R1T1 vem a auxiliar no desenvolvimento de profissionais ainda mais qualificados. Um ponto relevante solucionado com a aplicação do robô e o ensino remoto através do mesmo é o empasse entre ‘aprendizado’ versus ‘privacidade’ em consultas, exames e cirurgias, onde por um lado os alunos precisam adquirir experiência em aulas práticas com contato com os pacientes, e por outro, onde os pacientes necessitam de uma maior privacidade uma vez que estes não se sentem confortáveis com vários alunos participando de sua rotina. Esta premissa também é válida para o acompanhamento e verificação da viabilidade de órgãos na área de transplantes (138).

1.5.2 Conexão Com Equipes Externas

A cooperação entre equipes remotas, facilmente interligadas através do robô R1T1, possibilita um maior grau de sinergia entre equipes externas, colaborando com a formação de times altamente colaborativos. Uma maior assertividade, decisões mais sólidas, um maior envolvimento profissional, um aumento na qualidade percebida e uma maior satisfação dos envolvidos são algumas das vantagens vislumbradas com a utilização desta nova tecnologia (139).

1.5.3 Integração Com o ERP, Sistemas Hospitalares e Prontuários

Uma grande vantagem de sua plataforma é o fato de o robô R1T1 possibilitar a integração com o Enterprise Resource Planning - ERP, prontuários

eletrônicos e demais sistemas hospitalares já utilizados normalmente em sua rotina, disponibilizando-os de uma maneira fácil e acessível, de maneira segura e com a praticidade da mobilidade a todos que estiverem conectados ao equipamento. A aplicação do robô R1T1 para o acompanhamento dos registros dos pacientes de qualquer lugar do hospital, por equipes internas e externas, pode trazer eficiência, agilidade e qualidade ao atendimento (138-139).

1.5.4 Gravação de Procedimentos

O robô R1T1 propicia a gravação em alta definição e em tempo real de cirurgias e procedimentos delicados através de sua câmera de 4K de alta resolução. Tais operações ainda podem ser transmitidas no mesmo momento de sua realização e/ou armazenadas como registro, podendo ser posteriormente utilizadas como estudo de casos, treinamentos e material de ensino, entre outras aplicações (138-139).

1.6 O Equipamento APSCERR Conectado ao Robô R1T1

O equipamento APSCERR, apresentado na figura abaixo, foi desenvolvido em trabalho anterior como uma primeira parte deste projeto de pesquisa, sendo agora utilizado para a visualização das alterações hepáticas deste novo estudo. A pesquisa anterior compara a utilização do aparelho APSCERR/R1T1 frente ao uso do aparelho celular Microsoft®, modelo 950XL, bem como apresenta o texto descritivo da criação do APSCERR/R1T1 registrado junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual – INPI sob o número BR 10 2017 008807 3, e sua publicação junto a revista da

propriedade industrial Nº 2434 de 29/08/2017 p477 (Anexo 1), conforme descrito em sua íntegra no Apêndice 1, tendo-se obtido a publicação científica com revisão por pares desta pesquisa em forma de livro pela Atena Editora, conforme destacado no Apêndice 2.

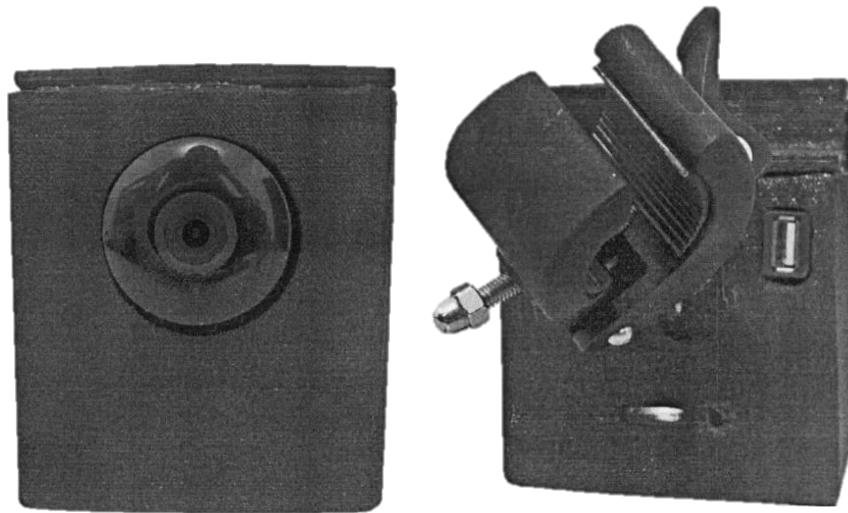


Figura 4: Ilustração do Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação Automática com o Robô R1T1- APSCERR

Embora o aparelho celular possa ser utilizado para se observar a macroscopia do órgão a ser obtido, constata-se dificuldades na utilização do mesmo em aspectos quanto a luminosidade, coloração, largura de banda de internet, tempo de bateria, praticidade de armazenamento de vídeos, privacidade, facilidade de manuseio e outros atributos para a obtenção de uma boa imagem que seja de confiança e disponível instantaneamente para todos os envolvidos (140-143).

Como um exemplo dos fatores adversos de coloração e luminosidade, pode-se notar o paralelo entre as duas figuras abaixo, onde o mesmo fígado foi fotografado empregando o mesmo aparelho celular, porém em situações diferentes de luz. Tal situação poderia levar a uma interpretação equívoca sobre os aspectos macroscópicos do órgão.

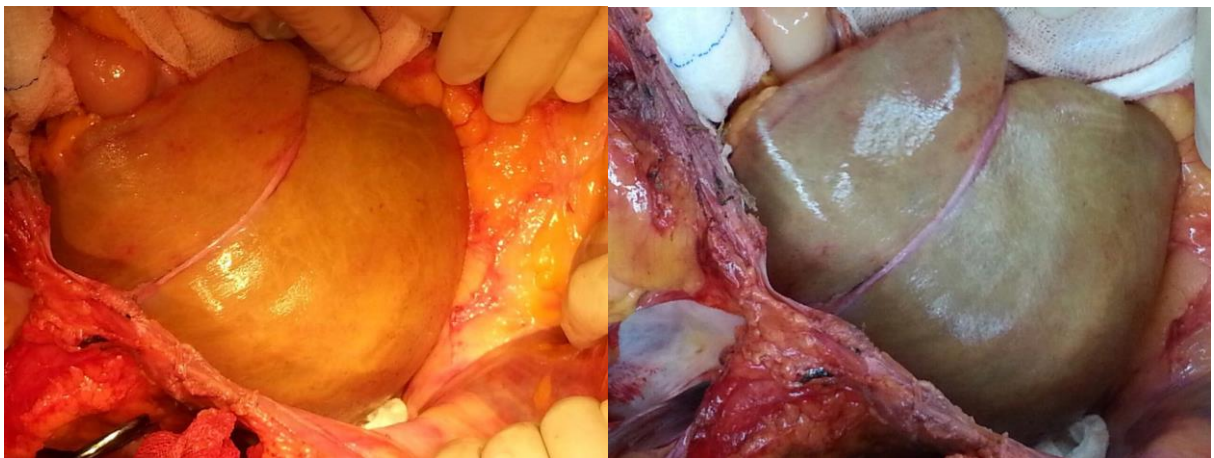


Figura 5: Comparação entre imagens de um mesmo fígado fotografado utilizando o mesmo aparelho celular, porém em situações diferentes de luminosidade

Fonte: Arquivo pessoal da Dr. Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin

Por sua vez, aspectos relacionados a privacidade e segurança dos dados transmitidos em redes abertas através da internet devem ser considerados ao se empregar um aparelho celular pessoal para se fotografar e transmitir imagens de pacientes, sendo a criptografia de dados altamente necessária quando se trata da integridade e confidencialidade dos mesmos (143-146).

Ainda, características tecnológicas como o controle remoto do sistema, capacidade de múltiplas conexões, controle remoto de imagem, controle remoto sonoro, compressão de dados e preocupações quanto ao controle de infecção hospitalar são necessidades almejadas ainda ausentes nos aparelhos celulares (147-148).

Esta foi uma primeira concepção para o emprego do R1T1 no processo de captação de órgãos como forma de melhorar a viabilidade e efetivação da mesma, porém como o seu uso acoplado ao aparelho celular não atendeu as necessidades requeridas pelo procedimento, se fez necessário o desenvolvimento do equipamento APSCERR, que conforme apresentado em trabalho anterior satisfaz as necessidades apresentadas pelo procedimento cirúrgico.

Além disto, durante pesquisas anteriores, o uso do equipamento APSCERR/R1T1 possibilitou a comunicação em tempo real entre todos os envolvidos no procedimento de transplante de órgãos, especialmente entre a equipe de extração e a equipe de transplante do órgão, que pode acompanhar a cirurgia de extração remotamente e participar ativamente durante todo o processo, uma vez que a gestão de todo o fluxo de informações entre as equipes se encontra concentrada no robô R1T1 (138, 149-151).

Nesta pesquisa, os parâmetros associados a capacidade do equipamento APSCERR/R1T1 em detectar visualmente as características fotométricas do ICV no fígado serão apresentadas. Essa proposta foi baseada em trabalhos anteriores desenvolvidos em nosso laboratório, onde verificamos a capacidade do equipamento APSCERR/R1T1 em detectar o marcador ICV no parênquima hepático (149 - 151).

1.7 Sobre a Análise de Cores em Sistemas de Computador

No passado, várias pesquisas desenvolveram métodos para quantificar as cores e expressá-las numericamente com o intuito de tornar a comunicabilidade das mesmas mais simples e preciso (152-165). Tais métodos visaram proporcionalizar uma forma numérica de expressar as cores da mesma maneira como nos expressamos em termos de comprimentos e pesos. Em 1905, o artista americano A.H. Munsell (153) desenvolveu um método para a apresentação de cores no qual utilizou um grande número de pastilhas de papel colorido para a comparação visual com uma amostra de cor. Esse sistema foi atualizado para a criação do Sistema de Notação Munsell, o qual é utilizado até os dias atuais. Neste sistema, qualquer cor é expressa coma combinação de letras e números (H V/C), onde o (H) é a tonalidade, o (V) a luminosidade e o (C) a saturação, através de avaliação visual comparativa, que utilizada os livros de cor Munsell (152-155).

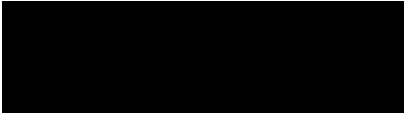
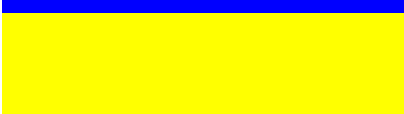
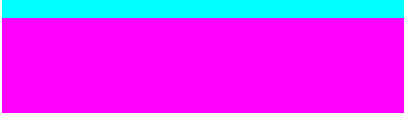
A organização internacional dedicada à luz e a cor, a Commission Internationale de L'Eclairage – CIE, também desenvolveu outras metodologias para a expressão numérica das cores. Os dois métodos mais conhecidos são o espaço de cores Yxy, desenvolvido em 1931, baseado nos valores tristímulus XYZ definidos pela CIE, e o espaço de cores $L^*a^*b^*$, desenvolvido em 1976 para proporcionar uma maior uniformidade nas diferenças de cores em relação às avaliações visuais (160-165).

Os monitores eletrônicos modernos utilizam por padrão o sistema de cor RGB (Red, Green e Blue) onde a mistura das cores vermelho (R), verde (G) e azul (B) resultam em cores distintas. Desta forma, as cores que observamos na tela do

monitor, no celular, no aparelho de televisão, nos displays de LED e outros dispositivos, são cores **emitidas**, onde as cores geradas pela emissão de luz do dispositivo nada mais é do que a combinação das cores vermelho, verde e azul (166-168).

As cores em RGB são declaradas com três valores em uma escala entre 0 e 255. Assim, temos o código RGB (255,255,255) que representa a cor branca, o RGB (255,0,0) representando a cor vermelha e o RGB (0,0,0) representando a cor preta. Ou seja, no padrão RGB o menor valor possível de ser atribuído para uma cor emitida é 0 (00 em hexadecimal), enquanto que o maior valor é 255 (FF em hexadecimal). Desta forma, uma cor especificada de acordo com a intensidade de seus componentes vermelho, verde e azul, possui 16.777.216 (256x256x256) de formas diferentes de ser declarada, sendo que cada cor pode ter 256 tonalidades (166-168). A combinação de algumas destas variações está apresentada na tabela e figura a seguir.

Tabela 1: Código hexadecimal e RGB para exemplificar a combinação das cores primárias vermelho, verde e azul na formação de novas cores

Cor	Hexadecimal	RGB
	#000000	RGB (0,0,0)
	#FF0000	RGB (255,0,0)
	#00FF00	RGB (0,255,0)
	#0000FF	RGB (0,0,255)
	#FFFF00	RGB (255,255,0)
	#00FFFF	RGB (0,255,255)
	#FF00FF	RGB (255,0,255)
	#C0C0C0	RGB (192,192,192)
	#FFFFFF	RGB (255,255,255)

Fonte: Website tabela de cores, disponível em: <https://tabeladecores.net/tabela-de-cores-html> (169)

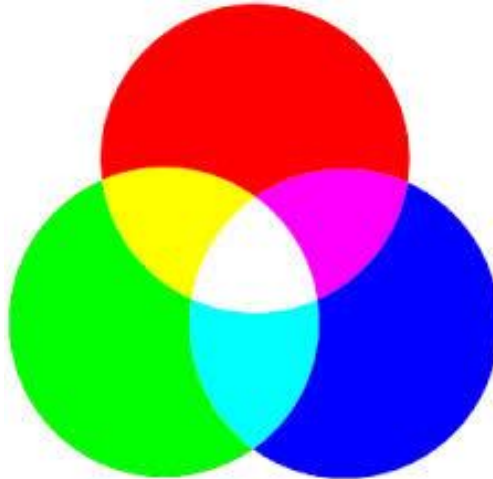


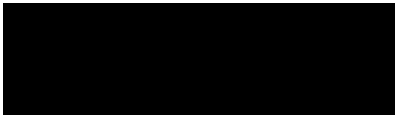
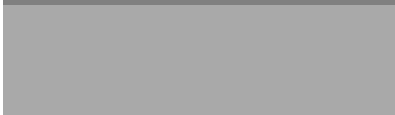
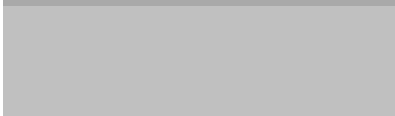
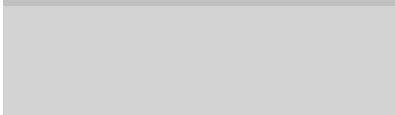
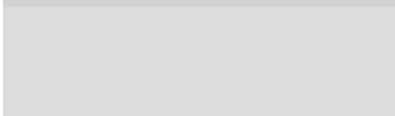
Figura 6: Modelo RGB: Combinação das cores primárias vermelho, verde e azul na formação de novas cores

Fonte: Website tabela de cores, disponível em: <https://tabeladecores.net/tabela-de-cores-html> (169)

Vale ressaltar, que quando os valores de vermelho (R), verde (G) e azul (B) são iguais no padrão RGB tem-se como resultado cores em escala de cinza. Por exemplo, o código RGB (105,105,105) é um cinza escuro, pois está mais próximo do preto RGB (0,0,0), enquanto que o código RGB (220,220,220) é um cinza mais claro, pois está mais próximo do branco RGB (255,255,255). Assim, tem-se a possibilidade da geração de 254 (256 códigos menos a cor branca e a cor preta) tons de cinza puro, ou seja, tons de cinza possuindo a mesma intensidade de vermelho (R), verde (G) e azul (B) em seu código RGB (166-168).

A combinação de algumas destas variações está apresentada na tabela abaixo.

Tabela 2: Código hexadecimal e RGB para se observar a combinação das cores vermelho, verde e azul na formação da cor cinza

Cor	Hexadecimal	RGB
	#000000	(0,0,0)
	#696969	(105,105,105)
	#808080	(128,128,128)
	#A9A9A9	(169,169,169)
	#C0C0C0	(192,192,192)
	#D3D3D3	(211,211,211)
	#DCDCDC	(220,220,220)
	#FFFFFF	(255,255,255)

Fonte: Website tabela de cores, disponível em: <https://tabeladecores.net/tabela-de-cores-html> (169)

As cores com padrão RGB têm uma definição colorimétrica inequívoca, a fim de permitir uma renderização fidedigna dos valores especificados, sendo este o porquê do padrão RGB ter sido o escolhido para utilização padrão em monitores do mundo todo (166-168).

O código hexadecimal para cores apresenta a mesma teoria que o código RGB, onde o código RGB é convertido para a base hexadecimal, sendo que seus valores consistem em seis números ou letras precedidas do “#”. Os dois primeiros elementos representam a intensidade do vermelho, sendo que o terceiro e o quarto elemento representam a intensidade do verde e os dois últimos a intensidade do azul. Assim, o resultado final será a combinação dessas três cores em diferentes intensidades, formando a cor desejada. Os valores variam entre 00 (mais escuro) até FF (mais claro). Por exemplo, temos o código #FFFFFF, representa a cor branca, pois tem a intensidade máxima das três cores, já o código #FF0000 representa a cor vermelha, com intensidade máxima para o vermelho e nenhuma intensidade para o verde e o azul (170).

Além dos padrões RGB e hexadecimal, ainda temos outros padrões de cores populares como o RGBA, HSL e HSLA (171-172).

Uma vez definido o funcionamento do código RGB, é possível verificar o código de uma cor exibida por computador através da sua própria declaração na linguagem de computador do sistema que está apresentando tal cor (comumente apresentado em linguagem HTML), uma vez que a mesma é endereçada combinando os valores de vermelho, verde e azul (RGB) para cada um dos pixels do monitor (173-177).

O pixel é o menor elemento em um dispositivo de exibição ao qual se é possível atribuir uma cor. Em outras palavras, um pixel é o menor ponto que forma uma imagem digital, sendo que o conjunto de pixels com várias cores formam a

imagem inteira. A figura abaixo apresenta o conjunto de pixels em uma imagem microscópica da tela de um monitor (178).

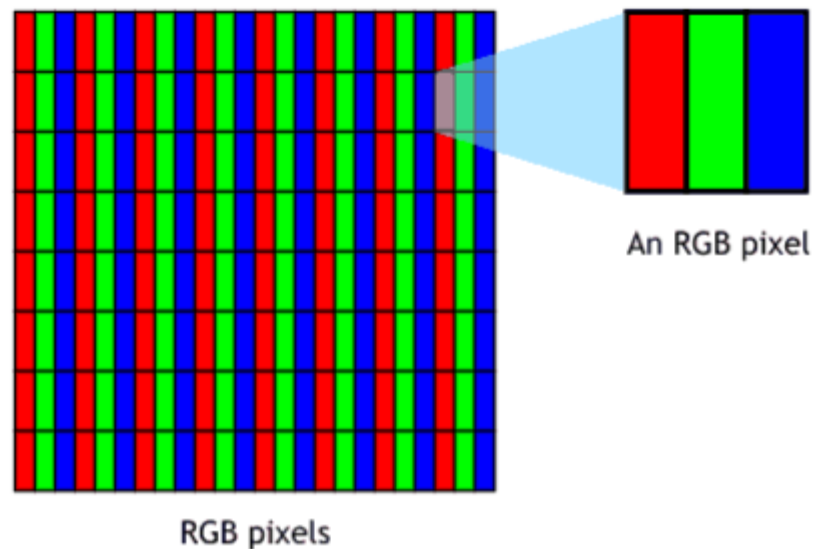


Figura 7: Representação microscópica do conjunto de pixels da imagem da tela de um monitor

Fonte: Website jornalismo UFV, disponível em: [https:// http://www.jornalismo.ufv.br/digital/pixel/](https://http://www.jornalismo.ufv.br/digital/pixel/) (179)

Para descobrir qual o código presente em uma imagem, vários softwares gráficos de computador como o Paint®, Adobe Color®, Photoshop®, Corel®, entre outros, se utilizam da análise de pixel para definição do código RGB de uma determinada cor presente em uma imagem, ou seja, a partir de tais programas é possível se conseguir o código RGB de cada pixel que estiver sendo apontado pelo mouse em uma determinada região da imagem (173-177).

1.8 Justificativa

Procurou-se na literatura e em bancos de dados não sendo encontrados referências que atestem a existência de um método padrão de avaliação fotométrica de exames com o marcador ICV diretamente no fígado, assim procurou-se usar o equipamento APSCERR/R1T1 para estruturar uma forma de realizar tal avaliação.

O potencial de utilização do ICV como auxiliar durante o procedimento cirurgico é enorme, assim buscou-se associar o uso do equipamento APSCERR/R1T1 para possibilitar melhor análise da gravidade das lesões de isquemia e reperfusão.

Devido ao ineditismo deste projeto e ausência de literatura, foi necessário a criação inicial de um projeto piloto inicial a fim de avaliar a capacidade de se detectar o marcador ICV no fígado e avaliar o grau da capacidade de detecção da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão através do equipamento APSCERR/R1T1, de forma a se criar uma escala de cores padrão, onde seja possível comparar os resultados da variação de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão nos experimentos.

Com o emprego desta nova tecnologia, almeja-se uma melhora no grau de efetividade e eficácia para o procedimento de doação de órgãos como um todo, sendo a detecção do ICV durante a reperfusão do fígado realizada em tempo real como forma de orientação durante o procedimento cirúrgico.

2. OBJETIVO

O objetivo geral desta pesquisa é descrever o processo de utilização do ‘Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação Automática com o Robô R1T1’ – ASPCERR conectado ao robô R1T1 (ASPCERR/R1T1) e sua aplicabilidade na detecção do marcador ICV nas alterações hepáticas seguidas de isquemia e reperfusão em ratos Wistar.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- 1) Avaliar a capacidade de detectar o marcador ICV no fígado, tanto a olho nu quanto com a utilização do equipamento APSCERR/R1T1.
- 2) Avaliar a capacidade de detectar a variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão, com a utilização do marcador ICV e sem a sua utilização, através do equipamento APSCERR/R1T1.
- 3) Criar uma escala de cores padrão, onde seja possível comparar os resultados da variação de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão.
- 4) Comparar os resultados da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado, durante a isquemia e reperfusão, com a escala de cores padrão.

- 5) Avaliar as análises bioquímicas, histológicas e mitocondriais após realização da isquemia e reperfusão.

3. MÉTODO

3.1 Local da Pesquisa

O estudo foi realizado no Laboratório de Hepatologia Cirúrgica e Transplante Hepático do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (LHCTH-NMCE-FCM-Unicamp).

Os exames mitocondriais foram processados no Laboratório de Bioenergética do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (LB-NMCE-FCM-Unicamp).

A preparação das lâminas para a análise histológica foi realizada no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (LAP-HC-Unicamp).

Os exames bioquímicos foram executados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (LPC-HC-Unicamp).

Os protocolos vigentes de cada serviço foram utilizados para a realização desta pesquisa.

3.2 Comitê de Ética

O estudo utilizando o equipamento APSCERR/R1T1 acoplado ao robô R1T1 foi deferido pelo Comitê de Ética de Utilização de Animais – CEUA, nº 4303-1, como apresentado no Anexo 2 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp - CEP, nº CAAE - 47966515.0.0000.5404, ReBEC nº RBR-9k7dmc, conforme apresentado no Anexo 3.

3.3 Procedimento Cirúrgico Padrão

O total de 45 ratos machos adultos da raça Wistar (***Rattus norvegicus albinus, rodentia, mammalia***) foram providos pelo Centro de Bioterismo da Cirurgia (CEMIB-Unicamp) e cuidados no Biotério do NMCE-Unicamp, com o máximo de quatro animais por cada gaiola. As condições ambientais foram controladas de acordo com a luminosidade e temperatura, em ciclos diurnos de luz, sendo que os animais receberam dieta padrão e água ***ad libitum*** durante todo o ciclo desta pesquisa.

A idade média dos animais utilizados nesta pesquisa foi de 9 semanas com desvio padrão de 1 semana, sendo que a droga ICV (Ophthalmos S.A., São Paulo/SP, Brasil) foi administrada de forma intravenosa pela veia caudal, na concentração de 5mg de ICV diluídos em 10mL de água bidestilada e dosagem de 0,5mg/kg do animal.

Após oito horas de jejum os animais foram pesados e anestesiados com tiopental sódico na dose de 25 mg/kg (Cristália Pharmaceutical Chemical Ltda, Campinas/SP, Brasil) de modo intravenoso, usando a veia caudal, com dispositivo para infusão intravenosa estéril, 23 G associado ao cloridrato de xylazina 30 mg/Kg

(Rhobifarma Pharmaceutical Ltda, Hortolândia/SP, Brasil) de modo intramuscular, usando-se o músculo quadríceps das patas traseiras.

A tricotomia da parede abdominal anterior foi realizada com a tosquiadora Oster Golden A 5-modelo 5-5-55J (Madison, WI, EUA) e a antissepsia da pele da região abdominal foi feita com solução polivinilpirrolidona iodada 10% (Johnson Wax Ltda, Rio de Janeiro/RJ, Brasil).

Os animais foram imobilizados em decúbito dorsal em prancha cirúrgica apropriada. O oxigênio foi administrado em fluxo contínuo de 2,0 litros/minuto, sendo fornecido em campânula plástica semiaberta, o que veio a favorecer a respiração do animal durante todo o experimento.

A laparotomia do abdômen dos animais procedeu-se com a incisão em “U”, seguindo o procedimento padrão estabelecido para a pesquisa (180).

Os quesitos referentes a imagem do fígado, tanto na fase de isquemia quanto na de reperfusão, foram observados frontalmente, tanto a olho nu quanto através do dispositivo APSCERR/R1T1, a uma distância de 50cm do objeto a ser estudado sendo esta distância medida com trena manual (Irwin Industrial Tools, Huntersville/NC, US). Imagens e vídeos frontais foram observados e registrados, sendo todo o procedimento gravado através do equipamento APSCERR/R1T1.

Os procedimentos descritos nesta sessão foram comuns a todos os grupos de estudo desta pesquisa.

3.4 Projeto piloto para detecção de alteração de tonalidade de cor no fígado com ou sem a administração do marcador ICV

Foi realizado um projeto piloto com dez ratos Wistar para se testar a capacidade do equipamento APSCERR/R1T1 em avaliar a tonalidade de cor no fígado dos animais. Estes foram distribuídos nos seguintes grupos:

1. Grupo isquêmico piloto (GI-P): Cinco ratos foram submetidos ao isolamento do lóbulo hepático esquerdo e ao clampeamento do mesmo com micro pinça vascular 588 RMIC 04 (LIDO Instrumentos Cirúrgicos Ltda, São Paulo/SP, Brasil) seguido da realização da isquemia do lóbulo esquerdo por 60 minutos com reperfusão de 60 minutos (I60/R60), sem a administração do marcador ICV.
2. Grupo isquêmico indocianina verde piloto (GI-ICVP): Cinco ratos foram submetidos ao isolamento do lóbulo hepático esquerdo e ao clampeamento do mesmo com micro pinça vascular 588 RMIC 04 (LIDO Instrumentos Cirúrgicos Ltda, São Paulo/SP, Brasil), com I60/R60 sendo que a administração do marcador ICV foi realizada imediatamente antes do início da isquemia.

Para todos os grupos, a eutanásia dos animais foi realizada mediante a sua secção cardíaca, estando estes ainda anestesiados.

O fluxograma do projeto piloto para detecção do marcador ICV no fígado tanto a olho nu quanto com o emprego do dispositivo APSCERR/R1T1 (1ª e 2ª observações), e para a detecção da variação gradativa da tonalidade de cor no fígado

durante a I60/R60, com e sem a administração do marcador ICV, através do dispositivo APSCERR/R1T1 (3ª e 4ª observações), está apresentado na figura abaixo.

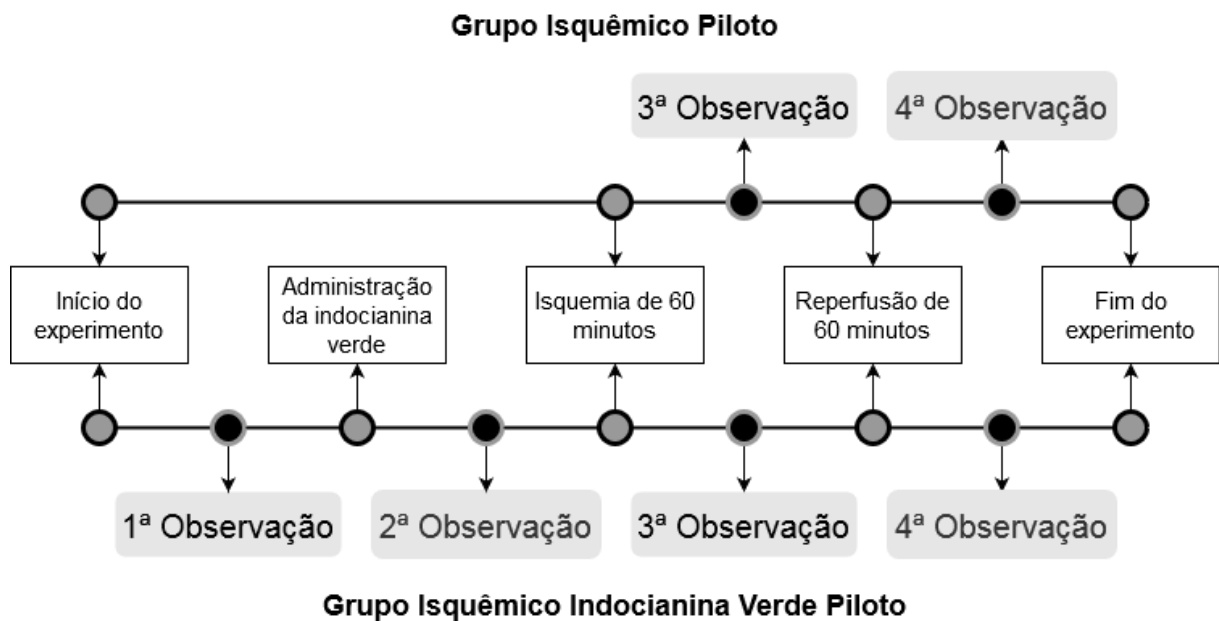


Figura 8: Esquema do projeto piloto para detecção do marcador indocianina verde no fígado tanto a olho nu quanto com a utilização do dispositivo APSCERR/R1T1 (1ª e 2ª observações), e para a detecção da variação gradativa da tonalidade de cor no fígado durante a isquemia de 60 minutos e reperusão de 60 minutos, com e sem a utilização do marcador indocianina verde, através do dispositivo APSCERR/R1T1 (3ª e 4ª observações)

Este projeto piloto buscou abordar os seguintes parâmetros:

1. Capacidade de detecção do marcador ICV no fígado tanto a olho nu quanto com a utilização do equipamento APSCERR/R1T1.
2. Capacidade de detecção da variação gradativa da tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão, com e sem a utilização do marcador ICV, através do dispositivo APSCERR/R1T1.
3. Criação de uma escala de cores padrão para utilização como referência visual pelo APSCERR/R1T1.

3.4.1 Detecção do marcador ICV no fígado tanto a olho nu quanto com a utilização do dispositivo APSCERR/R1T1

O grupo GI-P não foi utilizado para detecção do marcador ICV, uma vez que no mesmo o marcador ICV não foi administrado.

Durante os experimentos do grupo GI-ICVP, foi verificado se haveria detecção do marcador ICV como sendo **presente** (coloração diferenciada) ou **ausente** (mesma coloração), tanto a olho nu quanto com o equipamento APSCERR/R1T1. Esta avaliação foi realizada pelo pesquisador e outros dois observadores imediatamente antes e após a administração do marcador ICV sem os animais terem sido submetidos a I60/R60, durante a 1ª e 2ª observações.

Não foi possível detectar nenhuma variação de tonalidade de cor do fígado dos animais antes do uso do marcador ICV, tanto quando observado o fígado a olho nu quanto com o equipamento APSCERR/R1T1.

Entretanto, após o uso do marcador ICV, foi possível comprovar a capacidade técnica do equipamento APSCERR/R1T1 para detecção do marcador ICV, enquanto que não foi possível detectar nenhuma variação de tonalidade de cor quando se observou o fígado a olho nu, conforme apresentado na tabela e figuras abaixo.

Tabela 3: Resultado observado na detecção do marcado ICV no fígado de ratos Wistar, segundo os observadores, comparando o uso do equipamento APSCERR/R1T1 com a observação a olho nu, após a administração do marcador ICV e antes do início da I60/R60 do grupo GI-ICVP

Rato	APSCERR/R1T1			Olho Nu		
	Obs1	Obs2	Obs3	Obs1	Obs2	Obs3
1	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
2	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
4	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
5	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente

Obs = Observador; ICV = Indocianina verde, I60/R60 = Isquemia de 60 minutos e reperfusão de 60 minutos, GI-ICVP = Grupo isquêmico indocianina verde piloto

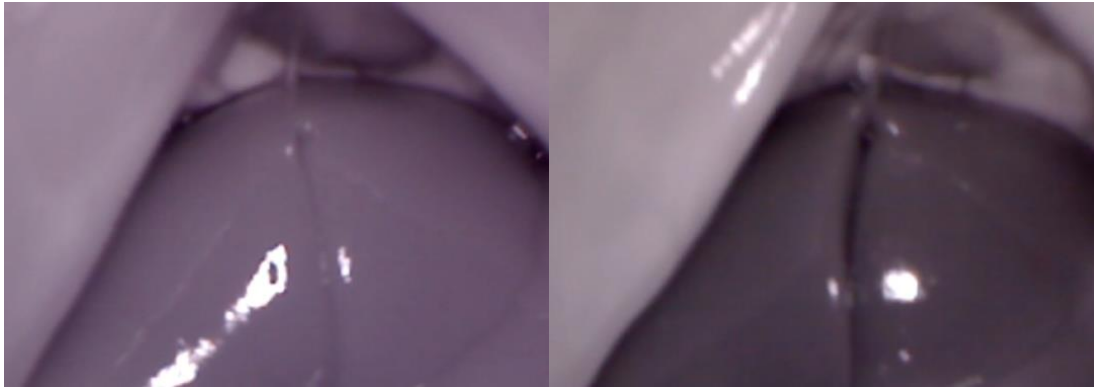


Figura 9: Imagem dos lóbulos do fígado antes (esquerda) e após a administração do marcador ICV (direita) no grupo GI-ICVP captada pelo equipamento APSCERR/R1T1

ICV = Indocianina verde, GI-ICVP = Grupo isquêmico indocianina verde piloto

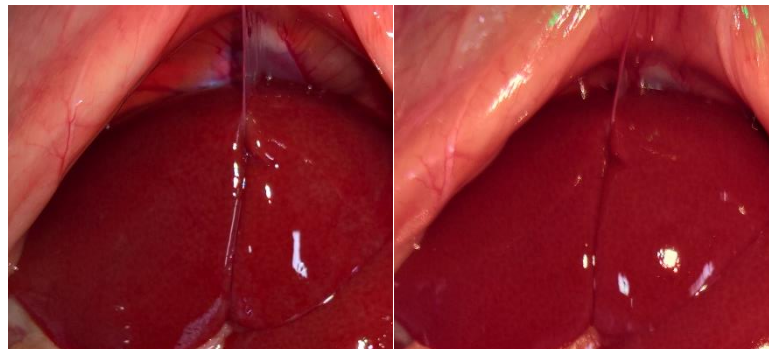


Figura 10: Imagem da visão a olho nu dos lóbulos do fígado antes (esquerda) e após a administração do marcador ICV (direita) no grupo GI-ICVP

ICV = Indocianina verde, GI-ICVP = Grupo isquêmico indocianina verde piloto

Um exemplo da diferença de tonalidade de cores entre o lóbulo isquêmico (esquerda) e o lóbulo não isquêmico (direito) do grupo GI-ICVP está apresentado figura abaixo.



Figura 11: Imagem da isquemia parcial do fígado captada pelo equipamento APSCERR/R1T1 demonstrando o contraste entre o lóbulo isquêmico (esquerdo) e lóbulos não isquêmicos (direito) do grupo isquêmico indocianina verde piloto - GI-ICVP

Apesar do equipamento APSCERR/R1T1 fornecer cinco tipos de tonalidades de cores diferentes (verde, amarelo, vermelho, cinza e branco) para a visualização do marcador ICV, a tonalidade cinza foi a escolhida para a utilização nesta pesquisa devido a sua maior nitidez e contraste.

3.4.2 Detecção da variação gradativa da tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão, com e sem a utilização do marcador ICV, através do dispositivo APSCERR/R1T1

Após comprovada a capacidade de detecção do marcador ICV pelo APSCERR/R1T1, procedeu-se a investigação da capacidade de detecção da variação **gradativa** de tonalidade de cor, dos lóbulos isquêmicos do fígado em comparação aos

lóbulo não isquêmicos (durante as fases de isquemia e reperfusão dos grupos pilotos), com ou sem a administração do marcador ICV, sendo estas observações realizadas através do equipamento APSCERR/R1T1 durante a 3ª e 4ª observações dos grupos pilotos.

O pesquisador e os outros dois observadores avaliaram o grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor na tela do robô R1T1, segundo uma escala de Likert com valores de 1 a 5, conforme descrito abaixo:

1. Ausência de variação gradativa de tonalidade de cor no lóbulo isquêmico em comparação aos lóbulos não isquêmicos do fígado.
2. Baixo grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor no lóbulo isquêmico em comparação aos lóbulos não isquêmicos do fígado.
3. Médio grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor no lóbulo isquêmico em comparação aos lóbulos não isquêmicos do fígado.
4. Alto grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor no lóbulo isquêmico em comparação aos lóbulos não isquêmicos do fígado.
5. Altíssimo grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor no lóbulo isquêmico em comparação aos lóbulos não isquêmicos do fígado.

Para comparação estatística destes dados foi utilizado o teste de Mann-Whitney, sendo o nível de significância adotado de $p < 0,05$.

Durante a fase de isquemia, foi possível observar a variação gradativa da tonalidade de cor do lóbulo isquêmico do fígado (tonalidade inicial escura se tornando mais clara) em comparação aos lóbulos não isquêmicos (que apresentam tonalidades mais escuras), com alto grau de nitidez, tanto com a administração do marcador ICV (GI-ICVP) quanto sem a sua administração (GI-P), sendo que a comparação entre os grupos com e sem a administração do marcador ICV não apresentou diferença estatística ($p = 0,177$), de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Durante a fase de reperfusão, sem a administração do marcador ICV (GI-P), não foi possível observar com nitidez a variação gradativa da tonalidade de cor do lóbulo isquêmico do fígado (tonalidade inicial clara se tornando mais escura) em comparação aos lóbulos não isquêmicos (que apresentam tonalidades mais escuras). Porém, com a administração do marcador ICV (GI-ICVP), foi possível observar com maior nitidez tal variação na tonalidade de cor, porém sem condições de análise estatística pois não se observou variabilidade das medidas analisadas.

Estes resultados foram apresentados na tabela abaixo.

Tabela 4: Grau de nitidez da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado de ratos Wistar, com e sem a administração do marcador ICV, durante a I/R, segundo os observadores, através do equipamento APSCERR/R1T1

	Grupo GI-P - Sem Administração do ICV						Grupo GI-ICVP - Com Administração do ICV					
	Isquemia			Reperusão			Isquemia*			Reperusão		
Rato	Obs 1	Obs 2	Obs 3	Obs 1	Obs 2	Obs 3	Obs 1	Obs 2	Obs 3	Obs 1	Obs 2	Obs 3
1	4	4	5	2	2	3						
2	5	4	5	2	3	2						
3	4	5	4	3	2	2						
4	5	5	5	2	2	3						
5	4	5	5	2	3	2						
6							5	4	5	5	5	5
7							5	5	5	5	5	5
8							4	5	5	5	5	5
9							5	5	5	5	5	5
10							5	5	4	5	5	5

* p = 0,177, obs = observador, ICV = indocianina verde, I/R = isquemia e reperusão, GI-P = grupo isquêmico piloto, GI-ICVP = grupo isquêmico indocianina verde piloto, 1 = ausência de variação, 2 = baixa variação, 3 = média variação, 4 = alta variação, 5 = altíssima variação

Foi possível observar a olho nu durante o tempo de I60/R60, tanto com e sem a administração do marcador ICV, que o fígado isquêmico se tornou mais claro e após a reperfusão houve retorno da coloração deste lóbulo isquêmico, porém não se pode detectar variação **gradativa** de tonalidade de cor (existindo apenas uma diferença de cor constante) do lóbulo isquêmico do fígado em comparação aos lobulões não isquêmicos durante a fase de I/R.

3.4.3 Criação da escala de cores padrão

O padrão RGB foi o adotado nesta pesquisa devido a sua ampla utilização e maior facilidade de entendimento.

A análise da variação de tonalidade do pixel da imagem do fígado foi realizada com a utilização do sistema Adobe Color®, com base em 256 obtidas com o aparelho APSCERR/R1T1, abrangendo as diversas tonalidades alcançadas observando-se o lóbulo do fígado antes do início da isquemia até o final da reperfusão de 60 minutos (181).

Como resultado, obteve-se a criação de uma escala de cores padrão denominada 'Escala Padrão' para a análise fotométrica do grau de variação de cor no fígado, quando observado com o equipamento ASPCERR/R1T1.

Durante a análise de cor do lóbulo isquêmico do fígado, pode-se observar a existência de 69 tonalidades de cinza puro diferentes, variando desde o código RGB(70,70,70) até o RGB(138,138,138), sendo esta faixa definida como o espectro contínuo de cores da Escala Padrão desta pesquisa. O espectro contínuo de cores foi

classificado em porcentagem, variando de 100% na sua tonalidade mais escura até 0% na sua tonalidade mais clara, conforme apresentado na figura abaixo.

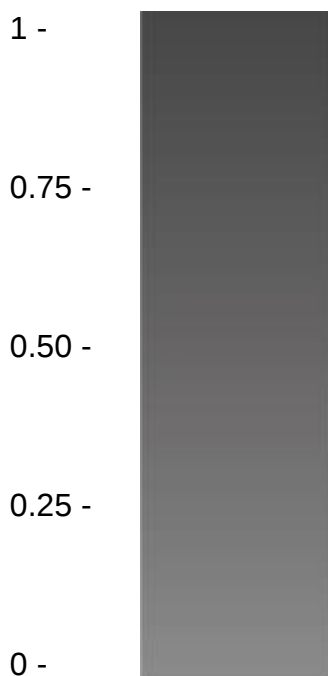


Figura 12: Espectro contínuo da escala de cores padrão com seus percentuais de 0 a 100% para a análise do grau de variação de cor no fígado quando observado com o equipamento ASCERR/R1T1

Para facilitar a apresentação dos resultados foram escolhidas três posições intermediárias, RGB (87,87,87), RGB (104,104,104) e RGB (121,121,121), como referência na criação de uma escala de cor cinza padronizada para este estudo.

Na figura abaixo está apresentado a tabela de cor padrão com fundo preto (1), a tabela de cor padrão com fundo branco (2), o código hexadecimal da tabela de cores padrão (3) e a distribuição RGB da tabela de cores padrão (4).

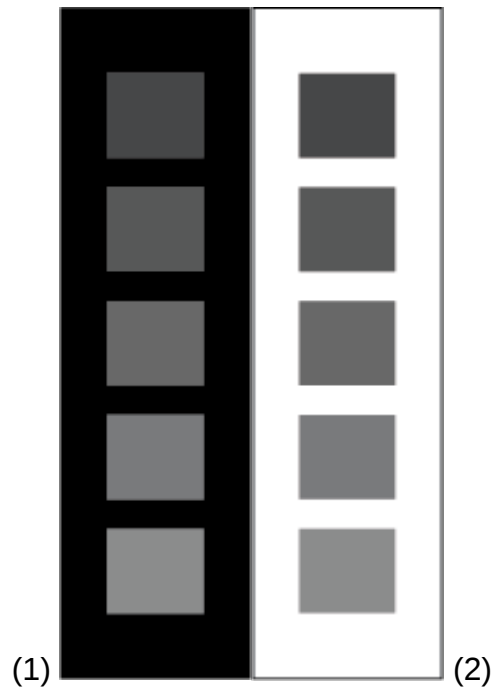
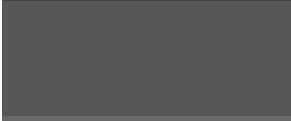


Figura 13: Escala de cores padrão para análise do grau de variação de cor no fígado quando observado com o equipamento ASCPERR/R1T1

1 = Tabela de cor padrão com fundo preto, 2 = Tabela de cor padrão com fundo branco, 3 = Código hexadecimal da tabela de cores padrão, 4 = Distribuição RGB da tabela de cores padrão.

A tabela abaixo, lista as cores de referência utilizadas na Escala de Cores Padrão, com sua descrição e seus códigos tanto em hexadecimais quanto em RGB, que podem ser utilizados para a reprodução visual das cores de referência.

Tabela 5: Códigos hexadecimais e RGB da tabela de cores padrão de referência e sua relação com o grau de isquemia e reperfusão observado no fígado através do equipamento APSCERR/R1T1

Cor	Código Hexadecimal	Código RGB
	#464646	R70G70B70
	#575757	R87G87B87
	#686868	R104G104B104
	#797979	R121G121B121
	#8A8A8A	R138G138B138

Durante os estudos realizados nesta pesquisa o código do RGB de cada tonalidade foi analisado automaticamente pelo dispositivo APSCERR/R1T1, comparando a variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico do fígado com o espectro de cores da Escala Padrão da pesquisa, onde a leitura do código RGB foi transformado em porcentagem através da seguinte fórmula:

$$\text{Porcentagem do Espectro de Cor} = (\text{Número do código RGB} - 70) / 68$$

Assim, o código RGB (138,138,138) que representa a parte mais escura do espectro de cores da tabela padrão corresponde a 1 (100%), o código RGB (121,121,121) corresponde a 0.75 (75%), o código RGB (104,104,104) corresponde a 0.50 (50%), o código RGB (87,87,87) corresponde a 0.25 (25%) e o código RGB (70,70,70) que representa a parte mais clara do espectro de cores da tabela padrão corresponde a 0 (0%).

3.5 Projeto experimental

Para a análise da isquemia e reperfusão com a utilização do marcador ICV no fígado de ratos Wistar, foram criados os seguintes grupos de estudo:

1. Grupo Controle (GC): Sete ratos foram submetidos a laparotomia com incisão em “U”, sem administração do marcador ICV, para observação dos órgãos internos por 120 minutos.
2. Grupo Indocianina Verde (G-ICV): Sete ratos foram submetidos a laparotomia com incisão em “U”, com administração do marcador ICV após cinco minutos do início do experimento para observação dos órgãos internos por 120 minutos.
3. Grupo Isquemia de 15 min e Reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde (GI15/R60-ICV): Sete ratos foram submetidos a laparotomia com incisão em “U” e após cinco

minutos do início do experimento foi realizada a isquemia do lóbulo esquerdo por 15 minutos. Imediatamente antes da reperfusão foi administrado o marcador ICV seguido da reperfusão de 60 minutos para observação dos órgãos internos durante todo o procedimento.

4. Grupo Isquemia de 30 min e Reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde (GI30/R60-ICV): Sete ratos foram submetidos a laparotomia com incisão em “U” e após cinco minutos do início do experimento foi realizada a isquemia do lóbulo esquerdo por 30 minutos. Imediatamente antes da reperfusão foi administrado o marcador ICV seguido da reperfusão de 60 minutos para observação dos órgãos internos durante todo o procedimento.
5. Grupo Isquemia de 60 min e Reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde (GI60/R60-ICV): Sete ratos foram submetidos a laparotomia com incisão em “U” e após cinco minutos do início do experimento foi realizada a isquemia do lóbulo esquerdo por 60 minutos. Imediatamente antes da reperfusão foi administrado o marcador ICV seguido da reperfusão de 60 minutos para observação dos órgãos internos durante todo o procedimento.

Os experimentos foram realizados de modo aleatório.

Nos grupos isquêmicos, o lóbulo hepático esquerdo foi isolado e submetido ao clampeamento com micro pinça vascular 588 RMIC 04 (LIDO Instrumentos Cirúrgicos Ltda, São Paulo/SP, Brasil) pelo tempo estabelecido em cada grupo.

Para todos os grupos, a eutanásia dos animais foi realizada mediante a sua secção cardíaca, estando estes ainda anestesiados.

O fluxograma dos grupos do projeto experimental está apresentado na figura abaixo.

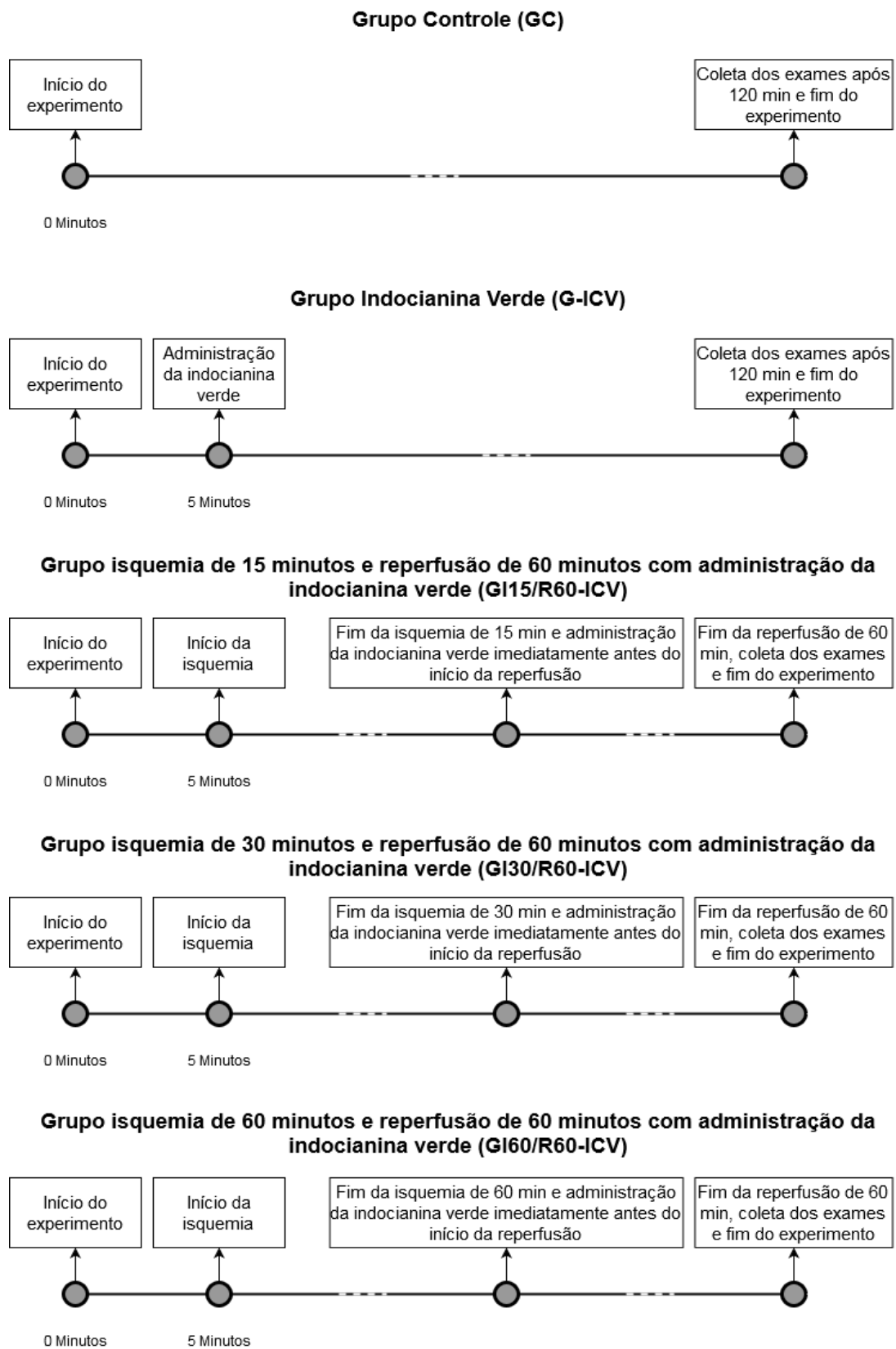


Figura 14: Fluxograma dos grupos do projeto experimental

3.5.1 Descrição da comparação da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão com a escala de cores padrão

A análise da tonalidade de cor dos pixels do fígado, tanto do lóbulo isquêmico quanto dos lobulões não isquêmicos, foi realizada automaticamente pelo software próprio do equipamento APSCERR/R1T1 (APSCERR/R1T1 Software versão 2.3, Project Company®, Maringá/PR, Brasil) (138).

O equipamento APSCERR/R1T1 foi programado para realizar esta análise nos tempos de 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 min contados imediatamente após o início da fase de isquemia (com término de acordo com a especificação de cada grupo) e também imediatamente após o início e até o término da reperfusão dos 35 experimentos realizados, conforme descrito no projeto experimental.

Os resultados da variação gradativa da tonalidade de cor do lóbulo isquêmico do fígado foram classificados de acordo com as seguintes premissas:

- Ausência de variação (A): Correspondendo a manutenção da tonalidade de cor mais escura da Escala Padrão durante a fase de isquemia e da manutenção da tonalidade de cor mais clara da Escala Padrão durante a fase de reperfusão. Os parâmetros utilizados foram de 0% a 25% do espectro contínuo de cores da Escala Padrão, do escuro para o branco durante a isquemia e do branco para o escuro durante a reperfusão.

- Pequena variação (P): Correspondendo a passagem da tonalidade de cor mais escura para a tonalidade de cor adjacente da Escala Padrão durante a fase de isquemia e da passagem da tonalidade de cor mais clara para a tonalidade de cor adjacente da Escala Padrão durante a fase de reperfusão. Os parâmetros utilizados foram de 26% a 50% do espectro contínuo de cores da Escala Padrão, do escuro para o branco durante a isquemia e do branco para o escuro durante a reperfusão.
- Média variação (M): Correspondendo a passagem da tonalidade de cor mais escura para a tonalidade de cor central da Escala Padrão durante a fase de isquemia e da passagem da tonalidade de cor mais clara para a tonalidade de cor central da Escala Padrão durante a fase de reperfusão. Os parâmetros utilizados foram de 51% a 75% do espectro contínuo de cores da Escala Padrão, do escuro para o branco durante a isquemia e do branco para o escuro durante a reperfusão.
- Grande variação (G): Correspondendo a passagem da tonalidade de cor mais escura para as duas tonalidades de cor mais claras da Escala Padrão durante a fase de isquemia e da passagem da tonalidade de cor mais clara para as duas tonalidades de cor mais escuras da Escala Padrão durante a fase de reperfusão. Os parâmetros utilizados foram de 76% a 100% do espectro contínuo

de cores da Escala Padrão, do escuro para o branco durante a isquemia e do branco para o escuro durante a reperfusão.

3.6 Exames Laboratoriais

As análises bioquímicas, histológicas e mitocondriais foram realizadas de forma a observar alterações provenientes da administração do marcador ICV e da realização da isquemia com tempos variados e reperfusão de 60 minutos.

Ao final de cada experimento, antes da secção cardíaca, foi realizada a coleta de $\pm 2,0$ ml de sangue, por cateterismo da aorta abdominal com cateter intravenoso nº 22, protegido da luz com papel alumínio, para dosagens das transaminases pelo LPC-HC-Unicamp. Duas biopsias hepáticas do lóbulo isquêmico (esquerdo) de cada animal foram coletados para a realização de exames histológicos e da avaliação da respiração mitocondrial.

Nós grupos isquêmicos (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV, GI60/R60-ICV) também foram coletadas duas biopsias hepáticas do lóbulo não isquêmico (direito) de cada animal para a realização de exames histológicos e da avaliação da respiração mitocondrial. Os estudos do lobo não-isquêmico foram denominados:

- Lobo não-isquêmico do grupo GI-I15/R60-ICV (GNI-I15/R60-ICV).
- Lobo não-isquêmico do grupo GI-I30/R60-ICV (GNI-I30/R60-ICV).
- Lobo não-isquêmico do grupo GI-I60/R60-ICV (GNI-I60/R60-ICV).

3.6.1 Avaliação bioquímica

As amostras de sangue foram centrifugadas a 2.500 rpm, durante 10 minutos (Centrifuga Fanem-206-R, São Paulo/SP, Brasil), sendo que o soro foi separado em micro tubos Eppendorf, mantidos em gelo e encaminhados para o LPC-HC-Unicamp onde foram realizadas as dosagens séricas.

A avaliação de lesão hepatocelular foi avaliada com a dosagem de aspartato aminotransferase - AST em UI/L e alanina aminotransferase - ALT em UI/L. Estes foram realizados por método enzimático cinético com equipamento automatizado MODULAR P800 EVO (Hitachi High Technologies Corporation, Tokyo, Japão).

3.6.2 Avaliação histológica

As biopsias foram coletadas ao final de cada experimento em todos os grupos desta pesquisa, sendo que nos animais que foram submetidos a isquemia colheu-se material tanto do lóbulo isquêmico (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV) quanto do lóbulo não isquêmico (GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV).

A leitura das lâminas foi feita por um único patologista em estudo cego. As biopsias hepáticas foram colocadas em solução de formol a 10% pelo tempo máximo de 24 horas. Após este período, foi colocado em álcool 70% e desidratado em bateria de álcool e xilol e em seguida incluídos em parafina e corados com Hematoxilina e

Eosina (HE), de acordo com o protocolo do Laboratório de Anatomia Patológica Experimental do NMCE da Unicamp.

Os graus de lesões dos hepatócitos (colheita / preservação / revascularização) foram classificados (150-152) como descrito abaixo:

- Grau 1 = Permeação sinusoidal por neutrófilos, acúmulos de fibrina
Ausência de lesão hepatocelular
- Grau 2 = Esteatose macro ou microvesicular grau 2 (<50%)
Retração/tumefação citoplasmáticas focais
- Grau 3 = Esteatose macro ou microvesicular grau 3 (>50%)
Necrose hepatocelular zonal
- Grau 4 = Necrose confluyente
Hemorragia sinusoidal

3.6.3 Avaliação da respiração mitocondrial

As biopsias foram coletadas ao final de cada experimento em todos os grupos desta pesquisa, sendo que nos animais que foram submetidos a isquemia colheu-se material tanto do lóbulo isquêmico (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV) quanto do lóbulo não isquêmico (GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV).

As biópsias hepáticas do lóbulo isquêmico e do lóbulo não isquêmico, medindo cerca de 2.0 x 1.0 x 2.0 cm, foram realizadas, e colocados em 5ml de solução de conservação contendo (2,77 mM de CaK₂EGTA, 7,23 mM de K₂EGTA, 6,65 mM de MgCl₂.6H₂O, 15 mM de Na₂Pospho-creatine, 20 mM de Imidazole, 0,5 mM de Dithiothreitol - DDT e 50 mM de MES em 1,0L com (pH 7,1), em um Becker e mantidas a 4°C em uma caixa de isopor com gelo moído para análise mitocondrial.

O cortador automático de precisão (CHOPPER) foi utilizado para realizar cortes homogêneos em micro pedaços. Para medição do consumo de oxigênio das biópsias coletadas foi utilizado um oxígrafo de grande resolução de respirometria - OROBOROS (Innsbruck, Áustria), com agitador magnético e regular com temperatura de 37°C.

Foram coletados aleatoriamente dois micros pedaços com peso médio de 4,0 a 6,0 mg, e inseridos nas cubas do aparelho junto com 2,1 ml de solução de meio de reação MIRO5 contendo (0,5mM de EGTA, 3mM de MgCl₂.6H₂O, 60 mM de K-lactobionate, 20 mM de Taurine, 10 mM de KH₂PO₄, 20 mM de HEPES, 110 mM de sucrose e 1 g/l de BSA) em 1,0L com (pH 7,2). Em seguida a atividade respiratória mitocondrial foi analisada por meio da adição sequencial de 20 uL de Piruvato, 20 uL Malato, 20 uL de solução de 50 mM de adenosina difosfato - ADP, 2 uL de solução de 1 mg/ml de oligomicina, 0,8 uL de solução 1 mM de carbonylcyanide p-Trifluormetoxifenilidrazona - FCCP, sendo que os dados foram determinados usando o software específico do aparelho OROBOROS (Innsbruck, Áustria).

Foram observados parâmetros de estimulação ou inibição da respiração mitocondrial quando adicionado ADP, oligomicina e FCCP, e na razão de seus controles respiratórios.

3.7 Análise Estatística

Durante o projeto piloto, foram realizadas análises qualitativas utilizando a escala de Likert para os critérios constatados pelos observadores.

Durante o projeto experimental, para comparação estatística foi utilizado o teste *Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks*, nos casos em que este indicou a existência de efeitos significativos, procedeu-se a comparações múltiplas pelo teste de Dunn, sendo o nível de significância adotado de $p < 0,05$.

O software adotado para os cálculos estatísticos foi o Statistical Analysis System - SAS System for Windows, versão 9.4 (SAS Institute Inc, Cary/NC, EUA).

3.8 Fomento

Nenhuma agencia de fomento foi utilizada como forma de aliciação de recursos financeiros para este estudo. Os recursos provenientes para o exercício desta pesquisa têm o valor total estimado de 550 mil reais, sendo oriundos da parceria público-privada entre a Unicamp e a empresa de tecnologia e inovação, Project Company, com a cessão de uso do robô R1T1 com valor de mercado de 500 mil reais a Unicamp.

4. RESULTADO

4.1 Resultados do Equipamento APSCERR/R1T1

4.1.1 Resultado da comparação da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado com a escala de cores padrão durante o tempo de isquemia

Pode-se observar a alteração gradativa da variação da tonalidade de cor durante o tempo de **isquemia** nos grupos isquêmicos (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV), quando comparado a variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico (esquerdo) do fígado com o espectro de cores da tabela padrão, utilizando o equipamento APSCERR/R1T1 em todos os experimentos realizados, conforme apresentado nas tabelas, gráfico e figura abaixo.

Tabela 6: Graus de variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico (esquerdo) durante o tempo de isquemia dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV, baseado nos graus de tonalidade de cor da Escala Padrão, através do equipamento ASPCERR

Grupo	2	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60 min
GI15/R60 -ICV	P 40%	M 52%	M 64%	G 84%									
GI30/R60 -ICV	M 51%	M 69%	G 83%	G 94%	G 100%	G 100%	G 100%						
GI60/R60 -ICV	M 60%	M 68%	G 80%	G 92%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%
Média Geral	P 50%	M 63%	G 76%	G 90%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%	G 100%

min = minutos, GV = grau de variação, A = ausência de variação, P = pequena variação, M = média variação, G = grande variação, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e perfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e perfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e perfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico

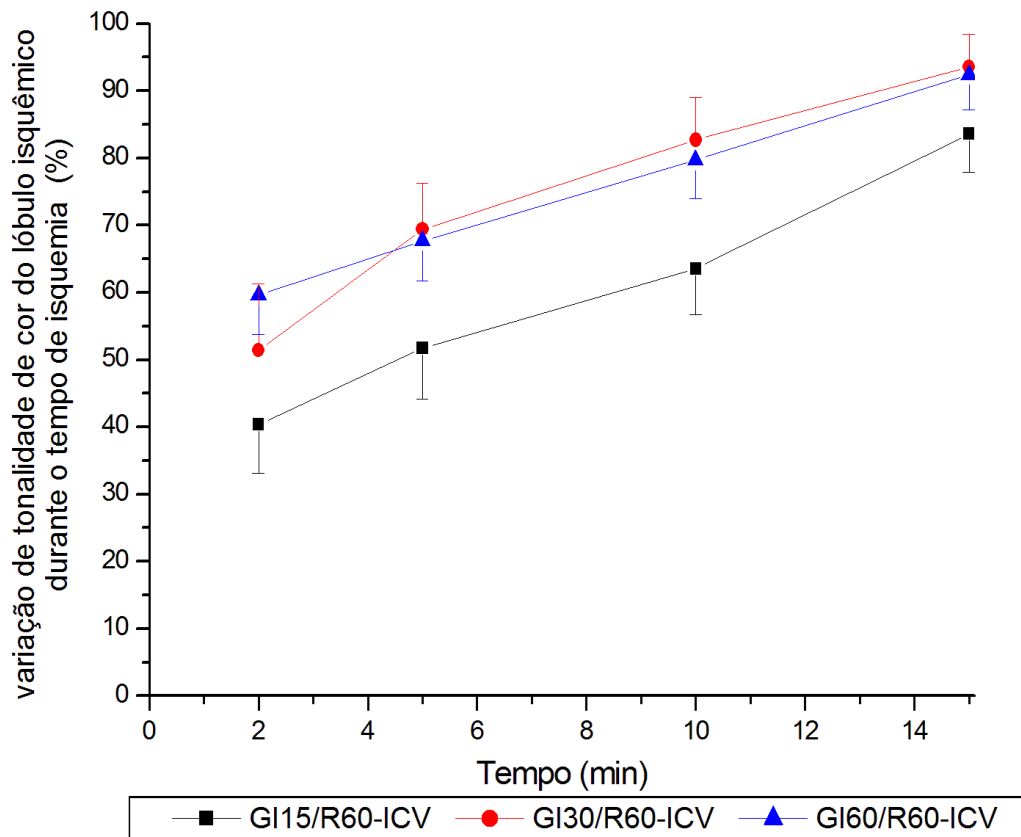


Gráfico 1: Representação gráfica comparação da variação gradativa de tonalidade de cor com o espectro de cores da Escala Padrão dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV durante o tempo de isquemia através do equipamento ASPCERR

Observou-se diferença entre os grupos utilizando o teste ANOVA para medidas repetidas e teste de Tukey: GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV ($p=0,0001$).

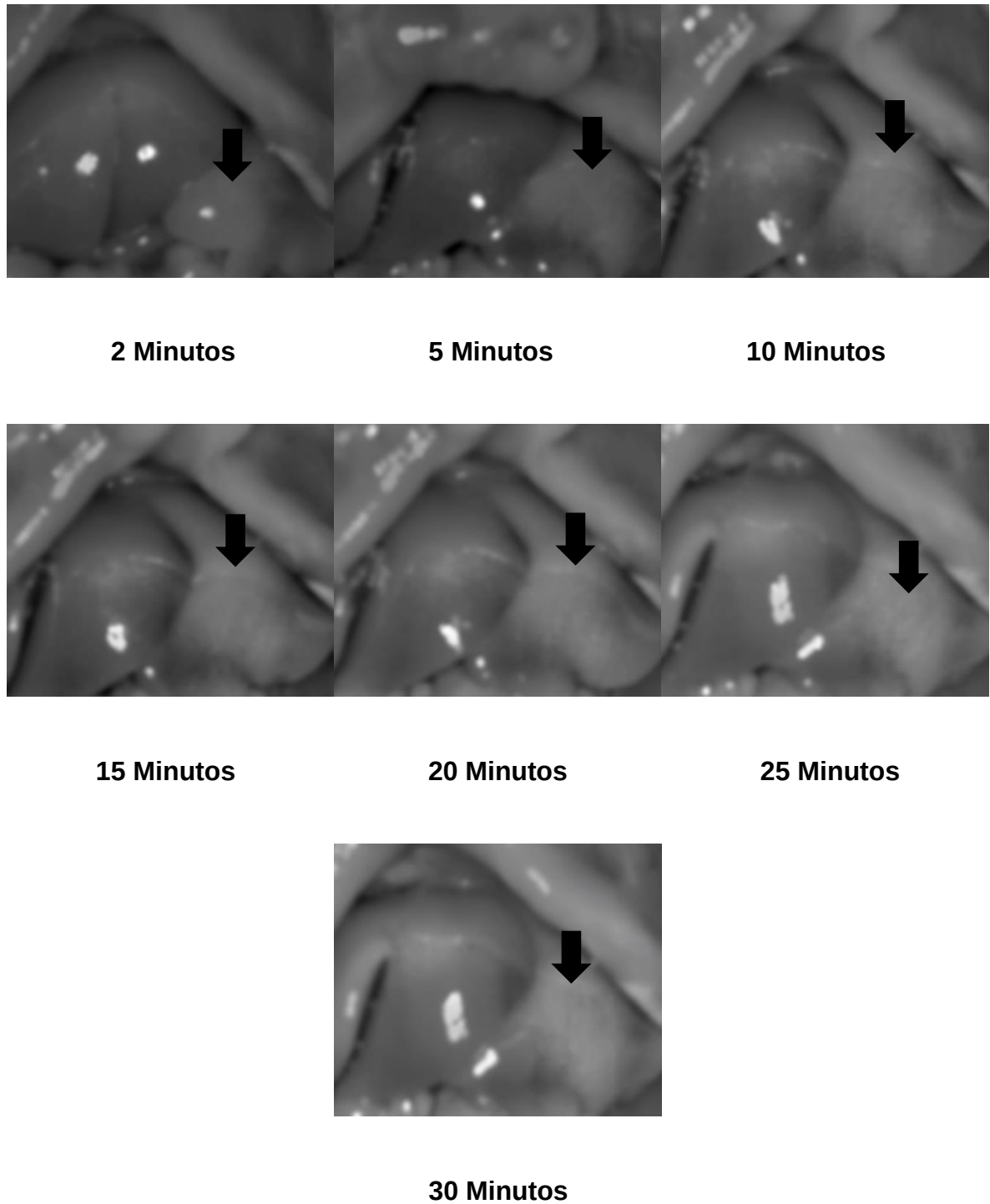


Figura 15: Exemplo de variação de tonalidade de cor durante o tempo de **isquemia** observado no lóbulo isquêmico esquerdo (sinalizado) aos 2, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos através do equipamento ASPCERR/R1T1

Segundo análise realizada automaticamente pelo equipamento APSCERR/R1T1, após o tempo de 30 minutos de isquemia não foram detectadas variações de tonalidade de cor significativas no lóbulo isquêmico do grupo GI60/R60-ICV.

4.1.2 Resultado da comparação da variação gradativa de tonalidade de cor no fígado com a escala de cores padrão durante o tempo de reperfusão

Pode-se observar a alteração macroscópica gradativa da variação da tonalidade de cor durante o tempo de **reperfusão** dos grupos isquêmicos (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV), quando comparado o lóbulo esquerdo (isquêmico) com os lóbulos não isquêmicos do fígado em relação aos graus de variação da Escala Padrão e em relação a variação relativa de tonalidade de cor entre os pares de lóbulos, com a utilização do equipamento APSCERR/R1T1 em todos os experimentos realizados, conforme apresentado nas tabelas, gráfico e figura abaixo.

Tabela 7: Graus de variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico (esquerdo) durante o tempo de reperfusão dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV, baseado nos graus de tonalidade de cor da Escala Padrão, através do equipamento ASCPERR

Média do Grupo [GV]	2	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60 min
GI15/R60-ICV	M 59%	M 66%	M 75%	G 82%	G 85%	G 88%	G 89%	G 90%	G 91%	G 91%	G 92%	G 92%	G 92%
GI30/R60-ICV	P 29%	M 54%	M 72%	G 78%	G 82%	G 85%	G 87%	G 88%	G 89%	G 90%	G 90%	G 91%	G 91%
GI60/R60-ICV	A 14%	P 27%	P 34%	P 40%	P 46%	M 51%	M 56%	M 59%	M 63%	M 66%	M 68%	M 71%	M 73%
Média Geral	P 35%	M 51%	M 63%	M 69%	M 73%	G 76%	G 79%	G 80%	G 82%	G 84%	G 85%	G 86%	G 86%

min = minutos, GV = grau de variação, A = ausência de variação, P = pequena variação, M = média variação, G = grande variação, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico

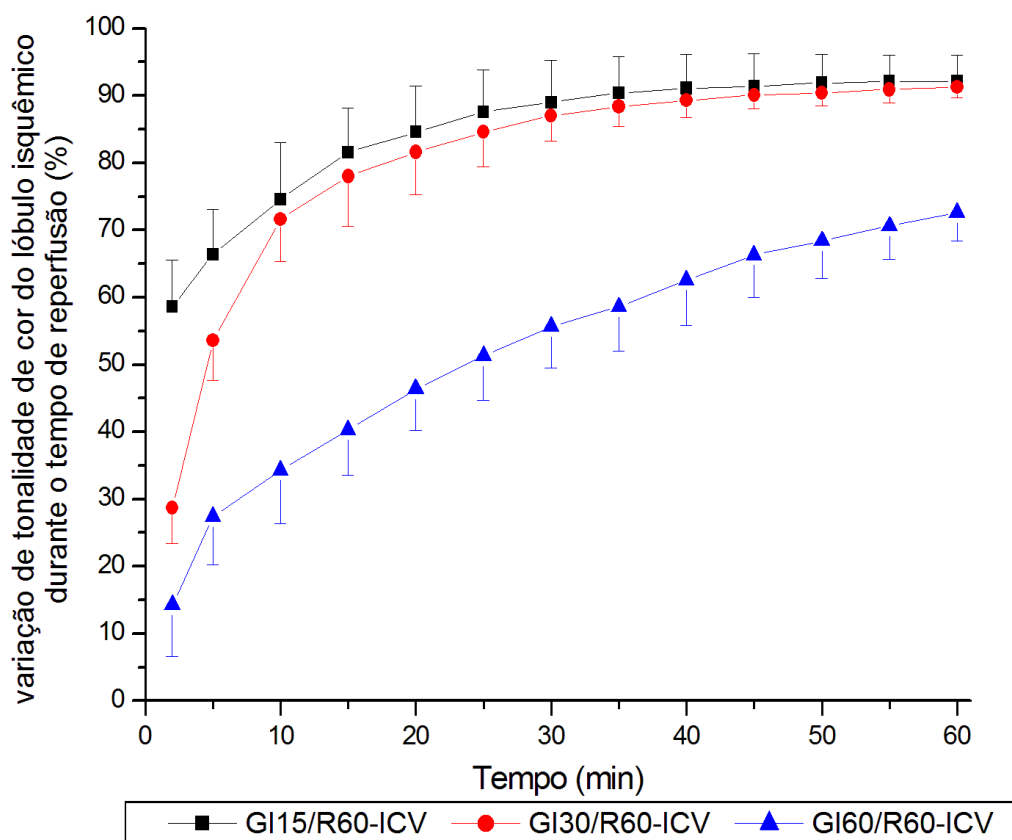


Gráfico 2: Representação gráfica comparação da variação gradativa de tonalidade de cor com o espectro de cores da Escala Padrão dos grupos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV durante o tempo de reperfusão através do equipamento ASCPERR

Observou-se diferença entre os grupos utilizando o teste ANOVA para medidas repetidas e teste de Tukey, $p=0,0001$, nos tempos de 2 e 5 minutos: GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV; GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV. Enquanto que nos demais tempos observou-se diferença entre os grupos: GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV; GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV, não apresentando diferença entre os grupos GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV.

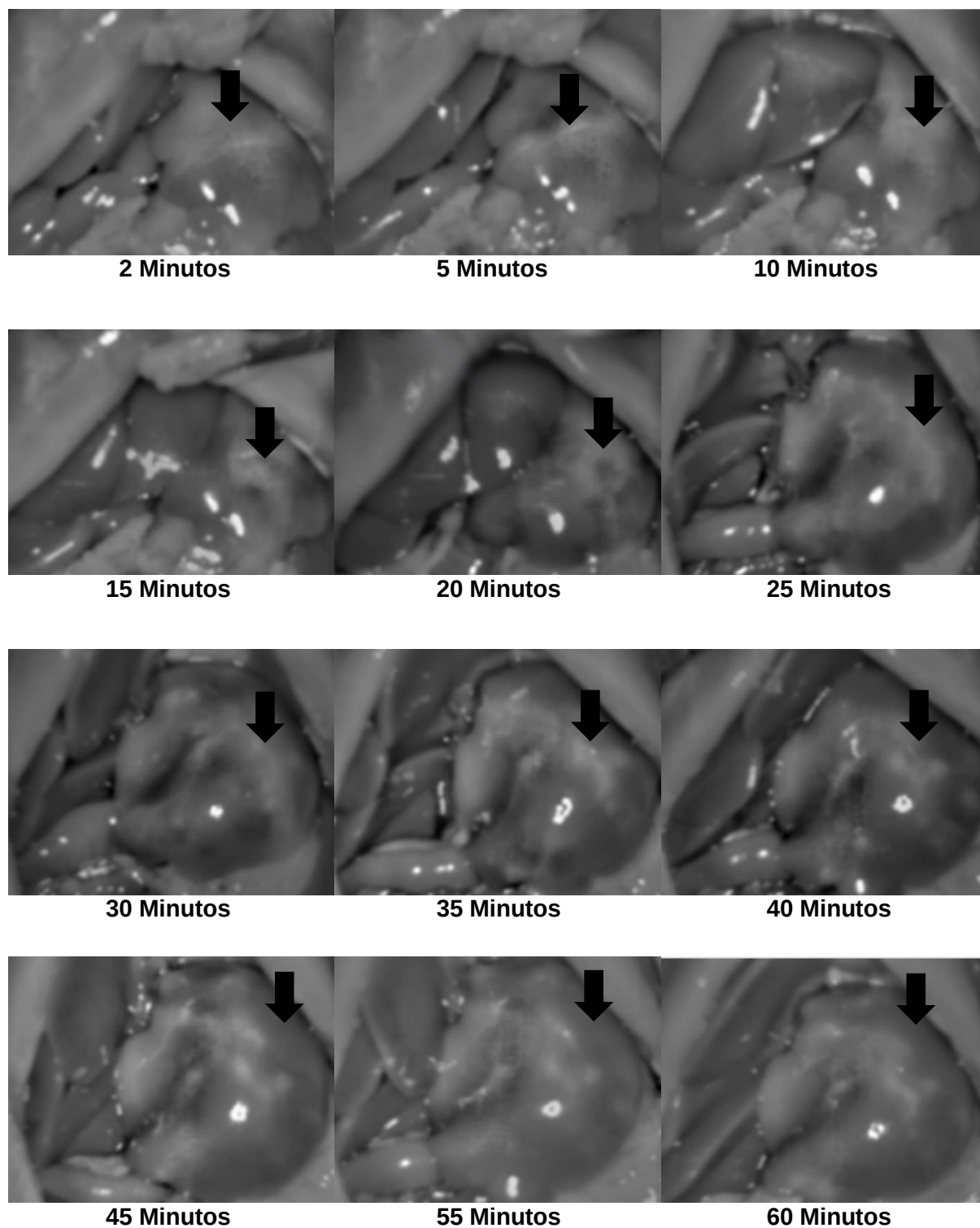


Figura 16: Exemplo de variação de tonalidade de cor durante o tempo de **reperfusão** observado no lóbulo isquêmico esquerdo (sinalizado) aos 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 minutos através do equipamento ASPCERR/R1T1

4.1.3 Avaliação macroscópica observada na tela do APSCERR/R1T1

A avaliação macroscópica dos lóbulos do fígado durante a fase de **reperfusão** dos grupos isquêmicos GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV, realizada com o equipamento APSCERR/R1T1, revelou o aspecto mosaico localizado no lóbulo isquêmico (esquerdo), conforme apresentado na figura abaixo.

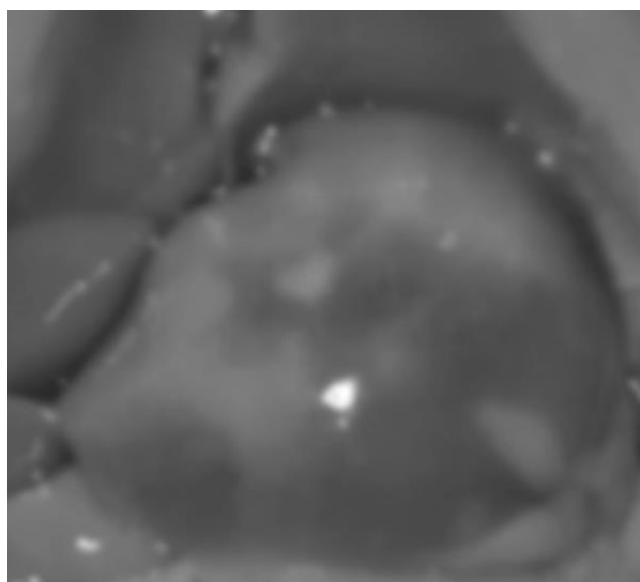


Figura 17: Exemplo do aspecto em mosaico observado nos lóbulos isquêmicos do fígado durante a fase de reperfusão com o equipamento APSCERR/R1T1

4.2 Resultados dos Exames

4.2.1 Resultado bioquímico

Os resultados dos estudos bioquímicos para avaliação das dosagens de AST e ALT entre os grupos desta pesquisa podem ser observados na tabela e gráficos de diagrama de caixa apresentados abaixo:

Tabela 8: Análise descritiva apresentadas como mediana (mínimo-máximo) das análises bioquímicas dos grupos experimentais (GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV)

Grupo	AST (UI/L)	ALT (UI/L)
GC	81 (56 - 96)	29 (25 - 37)
G-ICV	76 (70 - 87)	30 (28 - 37)
GI15/R60-ICV	348 (170 - 535)	95 (55 - 265)
GI30/R60-ICV	471 (223 - 667)	177 (70 - 306)
GI60/R60-ICV	600 (369 - 1164)	415 (192 - 1563)

UI/L = unidade internacional por litro, AST = aspartato aminotransferase, ALT = alanina aminotransferase, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde e GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde

Os resultados do estudo bioquímico para avaliação da dosagem de AST entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico diagrama de caixa abaixo.

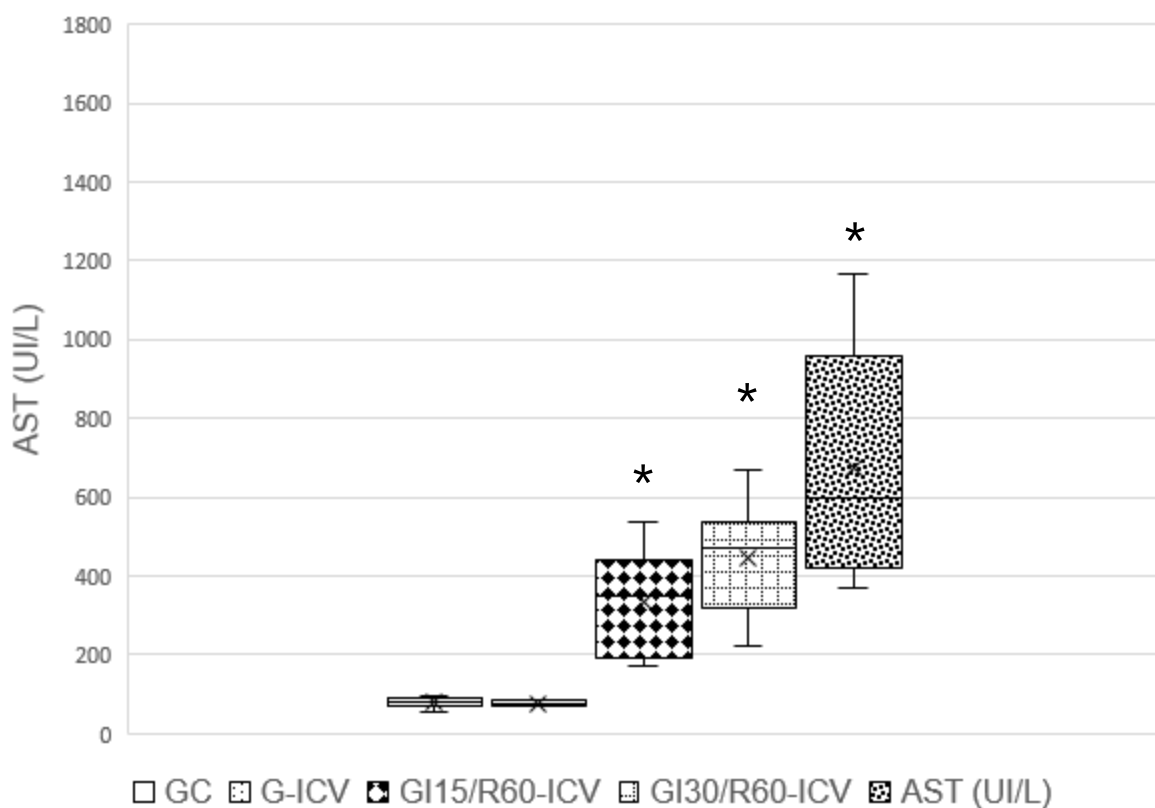


Gráfico 3: Dosagem da enzima aspartato aminotransferase - AST em UI/L pelo método enzimático cinético dos grupos experimentais (GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV)

*p = 0,001, AST = aspartato aminotransferase, UI/L = unidade internacional por litro, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde e GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde. Observou-se diferença entre os grupos (Teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn, $p < 0,0001$): GC e GI15/R60-ICV; GC e GI30/R60-ICV; GC e GI60/R60-ICV; G-ICV e GI15/R60-ICV; G-ICV e GI30/R60-ICV; G-ICV e GI60/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV

Observou-se diferença entre os grupos através do Teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn, $p < 0,0001$: GC e GI15/R60-ICV; GC e GI30/R60-ICV; GC e GI60/R60-ICV; G-ICV e GI15/R60-ICV; G-ICV e GI30/R60-ICV; G-ICV e GI60/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV.

Em outras palavras, os estudos bioquímicos para avaliação da dosagem de AST se mostrou estatisticamente semelhante entre os grupos GC e G-ICV. Já os grupos GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV apresentaram diferença estatística entre eles e apresentaram diferença estatística quando comparados com os grupos GC e G-ICV. Já o grupo GI60/R60-ICV apresentou um maior grau de alteração da dosagem da enzima AST quando comparado com todos os outros grupos.

Os resultados do estudo bioquímico para avaliação da dosagem de ALT entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico de diagrama de caixa apresentado abaixo.

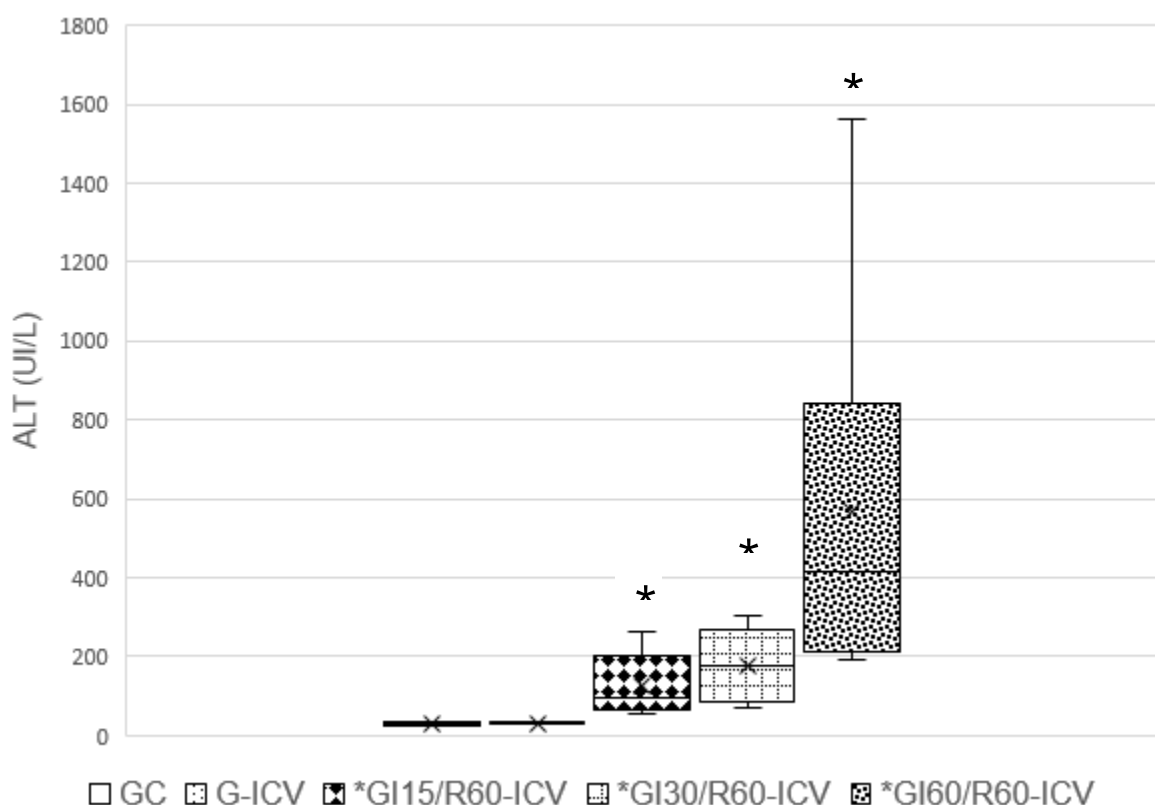


Gráfico 4: Dosagem da enzima alanina aminotransferase - ALT em UI/L pelo método enzimático cinético dos grupos experimentais (GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV)

*p = 0,001, ALT = alanina aminotransferase, UI/L = unidade internacional por litro, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde e GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde. Observou-se diferença entre os grupos (Teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn, $p < 0,0001$): GC e GI15/R60-ICV; GC e GI30/R60-ICV; GC e GI60/R60-ICV; G-ICV e GI15/R60-ICV; G-ICV e GI30/R60-ICV; G-ICV e GI60/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV

Observou-se diferença entre os grupos através do teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn, $p < 0,001$: GC e GI15/R60-ICV; GC e GI30/R60-ICV; GC e GI60/R60-ICV; G-ICV e GI15/R60-ICV; G-ICV e GI30/R60-ICV; G-ICV e GI60/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV.

Em outras palavras, o estudo bioquímico para avaliação da dosagem de ALT se mostrou estatisticamente semelhante entre os grupos GC e G-ICV e os grupos GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV. O grupo GI15/R60-ICV apresentaram diferença estatística quando comparados com os grupos GC, G-ICV e GI60/R60-ICV. O grupo GI30/R60-ICV apresentou diferença estatística quando comparado aos grupos GC e G-ICV. Já o grupo GI60/R60-ICV apresentou um maior grau de alteração da dosagem da enzima ALT quando comparado com todos os outros grupos.

Vale ressaltar que os resultados das análises bioquímicas entre o grupo GC e o grupo G-ICV não apresentaram diferença estatística para as dosagens de AST e ALT.

4.2.2 Resultado histológico

Os resultados do grau das lesões dos hepatócitos (colheita / preservação / revascularização) estão apresentados no gráfico abaixo:

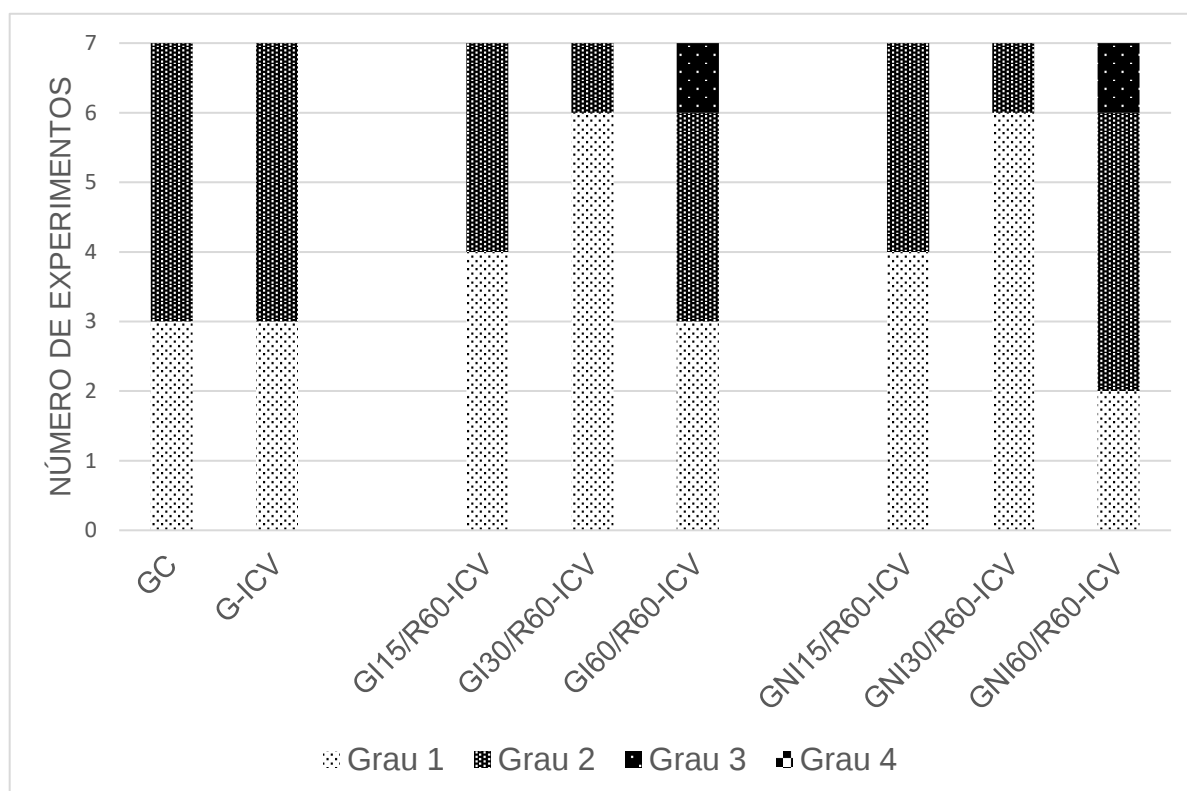


Gráfico 5: Distribuição de frequência do resultado do grau histológico das lesões hepáticas seguidos a I/R (isquemia/reperfusão)

min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico. Não houve diferença significativa entre os grupos estudados: $p=0,229$ entre os grupos no lóbulo isquêmico e $p=0,087$ entre os grupos no lóbulo não isquêmico (teste de Kruskal-Wallis)

4.2.3 Resultado da respiração mitocondrial

Os resultados da respiração mitocondrial, para os grupos desta pesquisa, podem ser observados na tabela e nos gráficos de diagrama de caixa abaixo.

Tabela 9: Análise descritiva da velocidade de respiração mitocondrial apresentados pela mediana (mínimo–máximo) com adição do ADP, OLIGOMICINA e FCCP em pmol.S-1.mg⁻¹ e seus controles respiratórios ADP/OLIGOMICINA e FCCP/OLIGOMICINA

Grupos	ADP (pmol.S-1.mg ⁻¹)	OLIGOMICINA (pmol.S-1.mg ⁻¹)	FCCP (pmol.S-1.mg ⁻¹)	ADP/ OLIGOMICINA	FCCP/ OLIGOMICINA
GC	26.4 (18.3 - 31.7)	12.5 (9.3 - 15.9)	40.0 (27.5 - 46.6)	2.03 (1.60 - 2.44)	3.10 (2.43 - 3.83)
G-ICV	25.5 (19.6 - 29.5)	12.5 (10.4 - 15.5)	41.3 (30.9 - 49.2)	1.96 (1.65 - 2.60)	3.00 (2.48 - 4.01)
GI15/R60-ICV	25.2 (20.7 - 29.5)	11.9 (10.4 - 14.2)	34.8 (31.2 - 40.0)	2.07 (1.59 - 2.51)	2.87 (2.28 - 3.24)
GI30/R60-ICV	22.9 (20.4 - 28.1)	11.1 (9.8 - 14.3)	33.7 (28.0 - 37.4)	2.02 (1.62 - 2.41)	2.89 (2.34 - 3.60)
GI60/R60-ICV	21.6 (13.5 - 25.4)	12.0 (8.3 - 13.3)	30.4 (17.3 - 33.7)	1.84 (1.41 - 2.52)	2.53 (2.08 - 3.16)
GNI15/R60-ICV	27.1 (18.5 - 30.9)	12.1 (10.2 - 14.3)	41.2 (27.8 - 49)	2.17 (1.52 - 2.70)	3.22 (2.28 - 3.94)
GNI30/R60-ICV	26.7 (20.8 - 29)	12.7 (10.7 - 13.5)	40.8 (30.4 - 44.4)	2.16 (1.64 - 2.36)	3.24 (2.39 - 3.81)
GNI60/R60-ICV	26.9 (20.3 - 30.1)	12.3 (10.9 - 15.0)	39.9 (33.2 - 45.4)	2.08 (1.53 - 2.69)	3.21 (2.52 - 3.72)

ADP = adenosina difosfato, OLIGO = oligomicina, FCCP = carbonylcyanide p-Trifluormetoxifenilidrazona, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia

de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico

Os resultados do estudo da velocidade de respiração mitocondrial com adição de ADP entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico de diagrama de caixa a seguir.

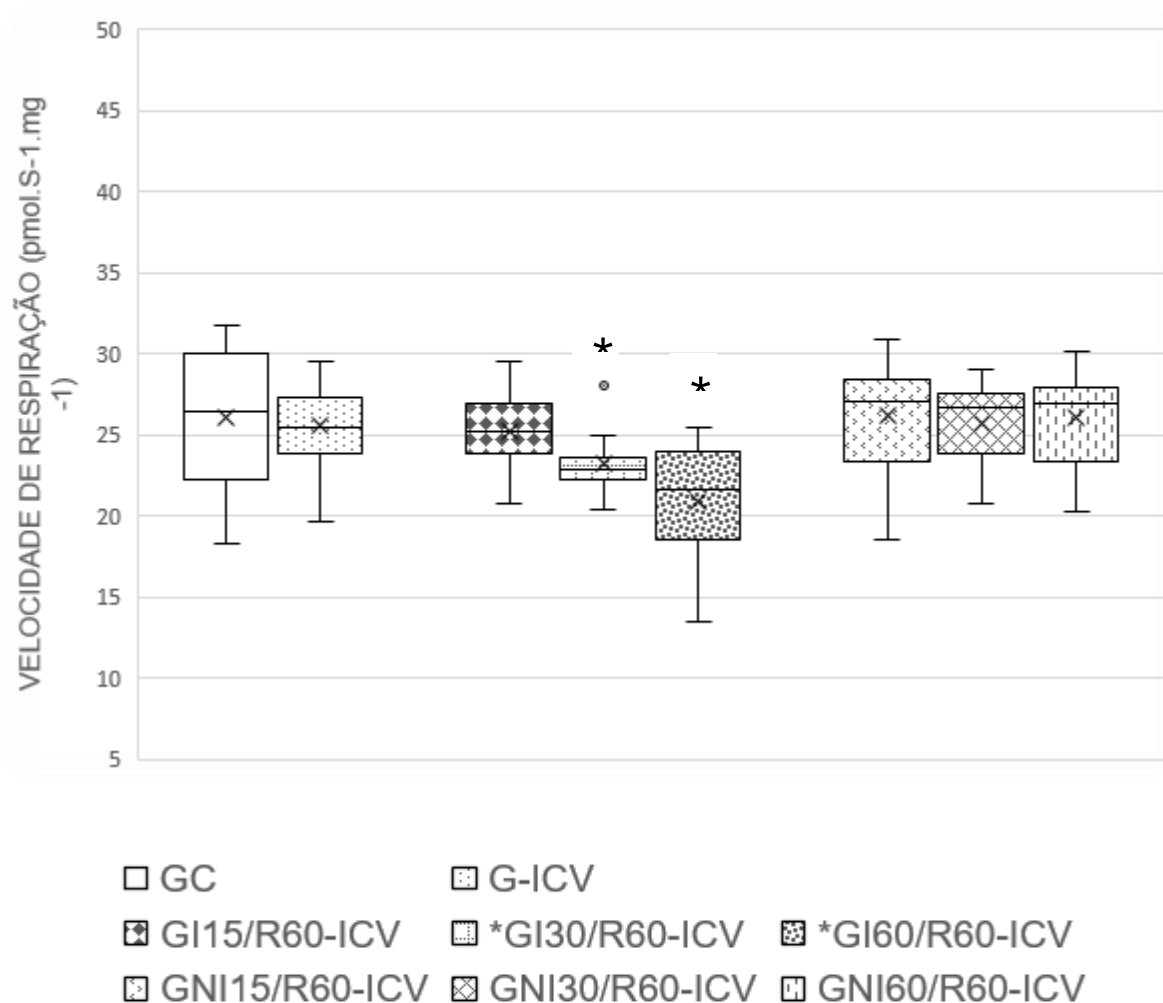


Gráfico 6: Resultado da velocidade de respiração mitocondrial com adição de adenosina difosfato - ADP em pmol.S-1.mg-1

min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico. Não houve diferença significativa entre os grupos do lóbulo não isquêmico ($p=0,9298$). Observou-se diferença entre os grupos no lóbulo isquêmico (Teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn, $p=0,001$): GC e GI30/R60-ICV; GC e GI60/R60-ICV; G-ICV e GI60/R60-ICV; GI15/R60-ICV e GI60/R60-ICV

O GC não apresentou diferença estatística quando comparado com aos grupos G-ICV, GI15/R60-ICV, GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV com a adição do ADP. Porém, o GC apresentou diferença estatística quando comparado aos grupos GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV. O grupo G-ICV foi estatisticamente diferente do grupo GI60/R60-ICV e o grupo GI15/R60-ICV foi diferente de GI60/R60-ICV com a adição do ADP. Também, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos do lóbulo não isquêmico.

Os resultados do estudo da velocidade de respiração mitocondrial com adição de OLIGOMICINA entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico de diagrama de caixa a seguir.

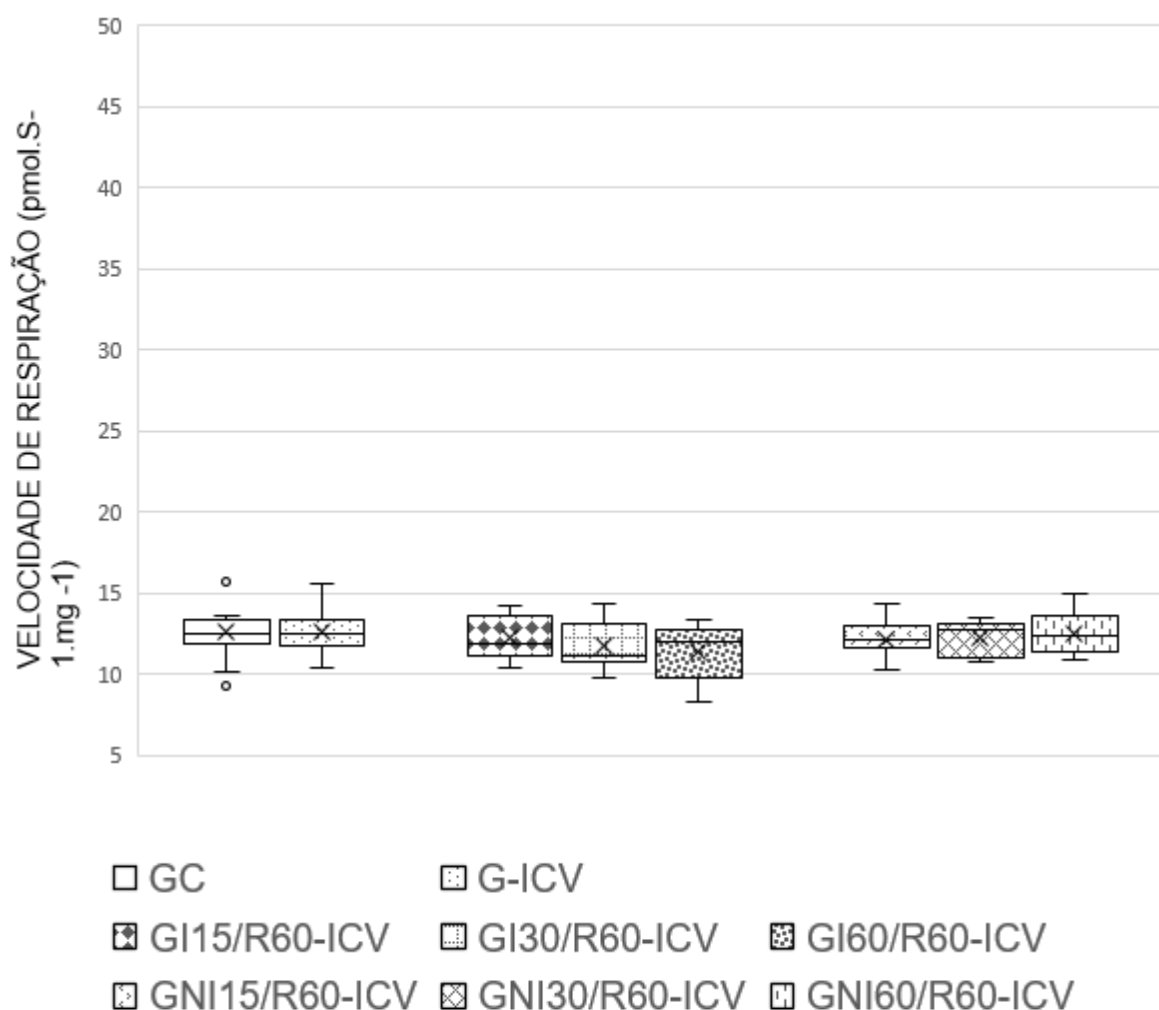


Gráfico 7: Resultado da velocidade de respiração mitocondrial com adição da OLIGOMICINA em pmol.S-1.mg-1

min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos $p=0,2481$ no lóbulo isquêmico e $p=0,8329$ no lóbulo não isquêmico (teste de Kruskal-Wallis)

A respiração mitocondrial não apresentou diferença estatística entre nenhum dos grupos desta pesquisa com a adição de oligomicina, $p=0,2481$ no lóbulo isquêmico e $p=0,8329$ no lóbulo não isquêmico utilizando o teste de Kruskal-Wallis.

Os resultados do estudo da velocidade de respiração mitocondrial com adição de FCCP entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico de diagrama de caixa a seguir.

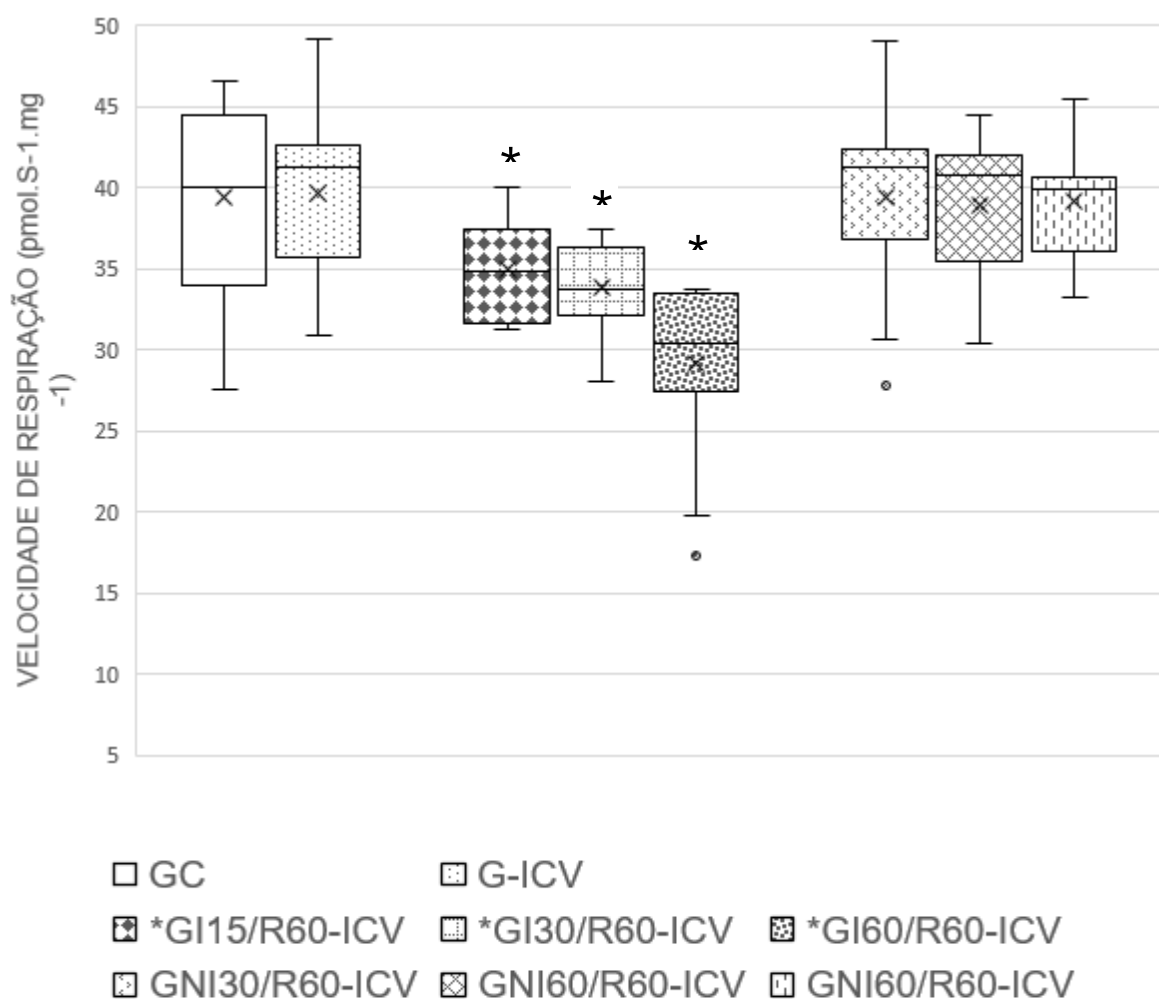


Gráfico 8: Resultado da velocidade de respiração mitocondrial com adição do FCCP em pmol.S-1.mg-1

FCCP = carbonylcyanide p-Trifluormetoxifenilidrazona, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no lóbulo não isquêmico, $p=0,9657$ (teste de Kruskal-Wallis). Foi observada diferença significativa entre os grupos no lóbulo isquêmico (teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn, $p<0,0001$): Os grupos GC e G-ICV apresentaram diferença em relação aos demais (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV). Houve diferença também entre GI15/R60-ICV e GI30/R60-ICV

A respiração mitocondrial não apresentou diferença estatística entre os grupos GC e G-ICV e também entre os grupos com lobos não isquêmicos (GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV) com a adição do FCCP. Os grupos isquêmicos (GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV e GI60/R60-ICV) apresentaram inibição da respiração mitocondrial quando comparado com os grupos GC, G-ICV, GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV. Por sua vez, o grupo GI15/R60-ICV apresentou diferença em relação ao grupo GI60/R60-ICV.

Os resultados do estudo do controle respiratório ADP/OLIGOMICINA entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico de diagrama de caixa a seguir.

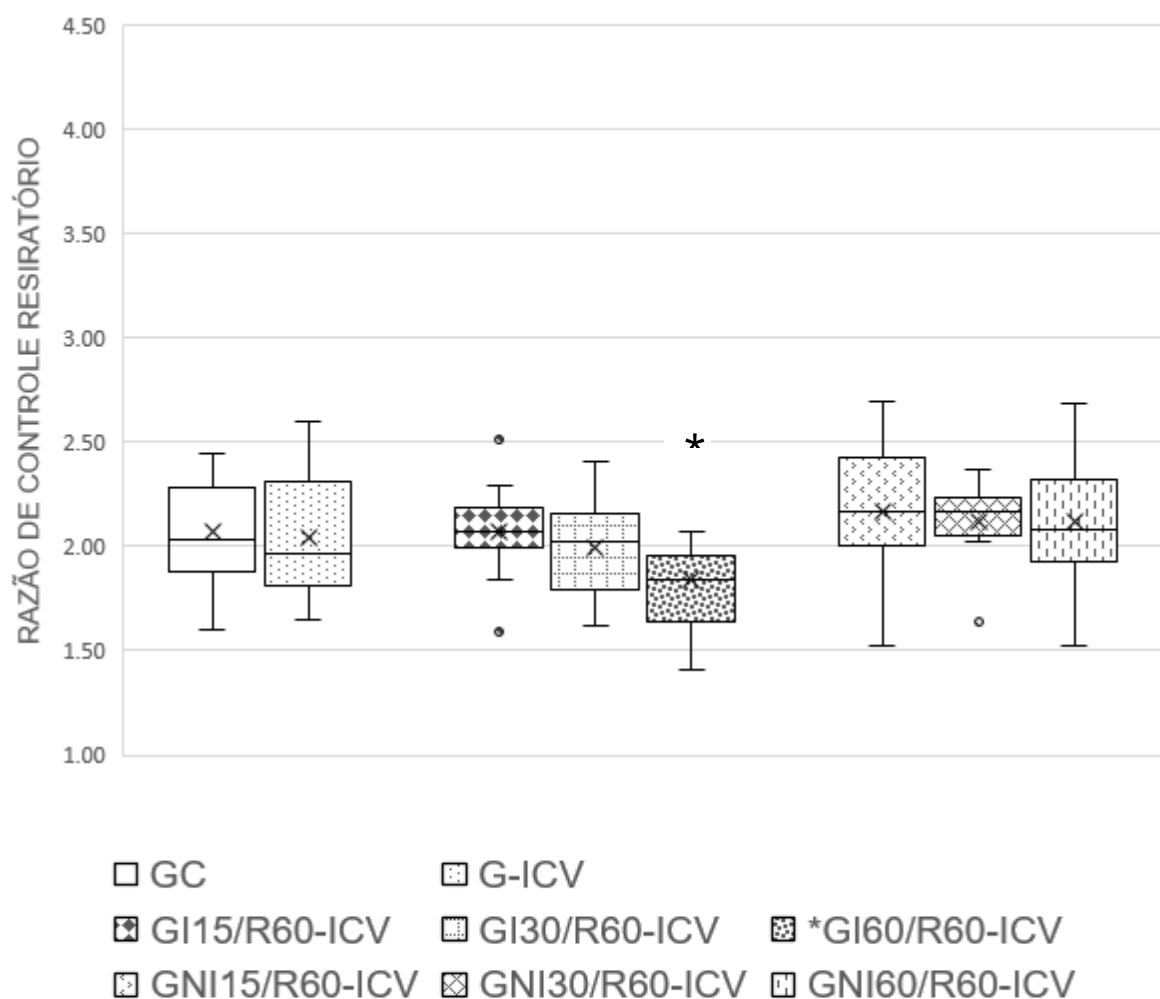


Gráfico 9: Resultado da razão de controle respiratório mitocondrial (ADP/OLIGOMICINA)

ADP = adenosina difosfato, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos do lóbulo não isquêmico ($p=0,7047$) e nem entre os demais grupos ($p=0,1142$), baseado no teste de Kruskal-Wallis

O controle respiratório ADP/OLIGOMICINA não apresentou diferença estatística entre os grupos GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV, GI60/R60-ICV, GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV.

Os resultados do estudo do controle respiratório FCCP/OLIGOMICINA entre os grupos desta pesquisa podem ser observados no gráfico de diagrama de caixa a seguir.

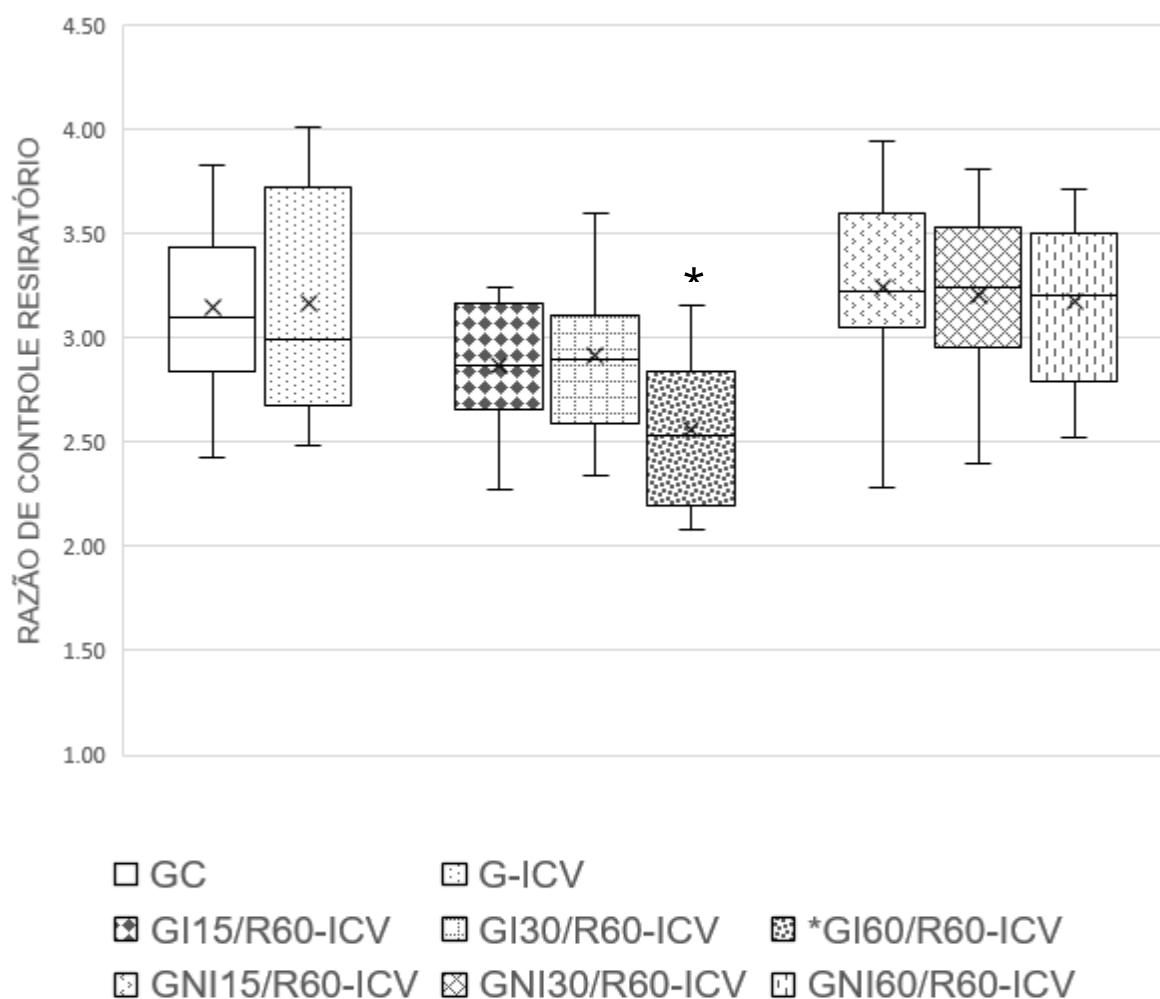


Gráfico 10: Resultado da razão de controle respiratório mitocondrial (FCCP/OLIGOMICINA)

FCCP = carbonylcyanide p-Trifluormetoxifenilidrazona, min = minutos, GC = grupo controle, G-ICV = grupo indocianina verde, GI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo isquêmico, GNI15/R60-ICV = grupo isquemia de 15 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI30/R60-ICV = grupo isquemia de 30 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico, GNI60/R60-ICV = grupo isquemia de 60 min e reperfusão de 60 min com administração da indocianina verde – lóbulo não isquêmico. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no lóbulo não isquêmico ($p=0,9620$) e no lóbulo isquêmico ($p=0,0097$) as diferenças foram dos grupos GC e GI60/R-ICV e G-ICV e GI60/R60-ICV, baseado no teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn

O controle respiratório FCCP/OLIGOMICINA não apresentou diferença estatística entre os grupos GC, G-ICV, GI15/R60-ICV, GI30/R60-ICV, GNI15/R60-ICV, GNI30/R60-ICV e GNI60/R60-ICV, sendo que também não houve diferença estatística entre os grupos do lóbulo não isquêmico. Por sua vez houve diferença significativa entre os grupos GC e GI60/R60-ICV e G-ICV e GI60/R60-ICV. Sem diferença entre os demais grupos.

Vale ressaltar que para fins de análise dos efeitos do marcador ICV, os resultados dos estudos da respiração mitocondrial não demonstraram nenhuma inibição ou estimulação oriundo da administração do marcador ICV, sendo que não foram encontradas diferenças estatísticas quanto a velocidade de respiração mitocondrial com adição do ADP, OLIGOMICINA, FCCP e as razões do controle respiratório ADP/OLIGOMICINA e FCCP/OLIGOMICINA, quando comparados o grupo GC (sem administração do marcador ICV) e o grupo G-ICV (com administração do marcador ICV).

4.2.4 Publicações e demais resultados

A presente pesquisa ainda apresentou as seguintes realizações:

- Publicação do artigo intitulado 'A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO ASPCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO', no livro 'DIFUSÃO DO CONHECIMENTO ATRAVÉS

DAS DIFERENTES ÁREAS DA MEDICINA' pela Atena Editora, conforme certificado apresentado no Anexo 4.

- Publicação do livro intitulado 'EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO CIRÚRGICO PORTÁTIL AUTOMÁTICO COM O ROBÔ R1T1 – APSCERR/R1T1' pela Atena Editora, conforme certificado apresentado no Anexo 5.
- Publicação do artigo intitulado 'RESULTS OF GREEN INDOCYANINE IN THE USE OF THE R1T1 ROBOT AS AID IN THE PRE-OPERATIVE PROCESS OF HEPATIC ORGAN TRANSPLANT: EXPERIMENT IN WISTAR RATS' na Revisit Transplantation Proceedings, conforme certificado apresentado no Anexo 6.
- Apresentação do trabalho intitulado 'O POTENCIAL DO EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO PORTÁTIL CIRÚRGICO AUTOMÁTICO COM ROBÔ R1T1 – ASPCERR: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA VIABILIDADE' no Congresso Brasileiro de Transplantes, conforme certificado apresentado no Anexo 7.
- Apresentação do trabalho intitulado 'A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO' no Congresso Brasileiro de Transplantes, conforme certificado apresentado no Anexo 8.

- Aperfeisramento do equipamento APSCERR/R1T1 para detecção do marcado ICV.
- Aperfeisramento do software que permite a comunicação entre o APSCERR/R1T1 e o robô R1T1 para detecção do marcador ICV.

5. DISCUSSÃO

Uma boa coordenação das atividades de comunicação nos procedimentos cirúrgicos é de grande importância para aumentar a qualidade dos processos e elevar a eficiência dos resultados como um todo (182-185).

Assim, um método para melhorar essa comunicação em rapidez e eficácia, foi elaborado. O APSCERR/R1T1 pode contribuir com a qualidade cirúrgica, principalmente em transplantes de fígado, onde o órgão transplantado depende inteiramente da reperfusão após o implante, que passou por um tempo em isquemia fria ou quente.

Dado que não encontramos na literatura um método padrão de análise fotométrica em procedimentos cirúrgicos utilizando o ICV (indocianina verde), foi necessário a elaboração de um modelo de referência. Assim foi desenvolvido um projeto piloto como base de análise durante os experimentos.

Os resultados do projeto piloto demonstraram a capacidade do equipamento APSCERR/R1T1 em detectar o marcador ICV no fígado e a capacidade de detectar a variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão, demonstrando alto grau de nitidez com a utilização do marcador ICV e menor grau de nitidez sem a sua utilização. Assim, por se tratar de um método de análise inédito, foi necessário criar um padrão de referência para os estudos. Desta forma realizou-se a criação de uma escala de tonalidade de cores padrão, onde graças

a esta escala foi possível a comparação da variação de tonalidade de cor no fígado, nos lobos isquêmicos e não isquêmicos, e durante a isquemia e reperfusão dos experimentos.

Durante o projeto piloto, a avaliação a olho nu não se pode detectar a variação gradativa de tonalidade de cor, com ou sem a administração do marcador ICV, conforme o observado na literatura (186-187).

Tem-se conhecimento que a cirurgia, por sua própria natureza, depende da capacidade do cirurgião em visualizar e distinguir tecidos ou estruturas saudáveis e não saudáveis. Sem tecnologia avançada, cirurgiões podem visualizar apenas o que pode ser visto a olho nu ou usando imagens de luz branca. Informações críticas sobre tecidos, estruturas anatômicas e os processos fisiológicos permanecem ocultos e difíceis de discernir. Assim como observado nos resultados desta pesquisa, em um apanhado de diversas formas de cirurgias (contendo entre elas a utilização do ICV), Abu-Rustum também conclui que imagens de fluorescência não visíveis de forma natural a olho nu, por estarem fora do espectro observável ao olho humano, facilitam o procedimento cirúrgico (186).

Colaborando com a presente pesquisa, Watanabe demonstrou a viabilidade da técnica de imagem por fluorescência utilizando indocianina verde. Injeções de ICV foram dadas a pacientes submetidos a colonoscopia pré-operatória para câncer de cólon precoce ou adenoma de cólon. Durante a laparotomia subsequente, o cólon foi primeiro observado a olho nu e, em seguida, usando câmera de vídeo por fluorescência. A fluorescência induzida mostrou a localização do tumor de forma clara e precisa em todos os dez pacientes (100%) inscritos neste estudo, ao

passo que foi vista a olho nu em apenas dois pacientes (20%), enfatizando a importância do auxílio de equipamentos similares ao equipamento APSCERR em auxiliar durante procedimentos cirúrgicos (188).

Em outra pesquisa, também utilizando câmeras de observação por infravermelho com auxílio da verde de indocianina, Aoki analisou que embora as manchas da superfície do fígado após a injeção de ICV via veia porta não seja claramente visível sem o sistema de câmeras, um minuto após a injeção de ICV usando sistema de câmera de observação, a demarcação do segmento de fígado e subsegmento foi claramente detectado, sendo assim mais uma vez enfatizado que o uso de câmeras, auxilia o procedimento cirúrgico, delimitando áreas e diminuindo a possibilidade de erros (189).

Em minha opinião, estudos realizados com novos equipamentos tecnológicos juntamente com a utilização de marcadores fotométricos, como o ICV, tem um grande potencial para auxiliar em avanços cirúrgicos. O desenvolvimento da escala de tonalidade de cores padrão neste trabalho poderá servir como base para outras pesquisas de análise fotométricas com a utilização do ICV, tanto com o auxílio do equipamento APSCERR, quanto como o de novos equipamentos.

Mesmo recentemente, não encontramos referências que revelem a existência de um método padrão de avaliação fotométrica de exames com o marcador ICV diretamente no fígado. Entretanto, com a utilização do equipamento APSCERR/R1T1, pode-se observar, em tempo real, a alteração gradativa da variação da tonalidade de cor durante o tempo de **isquemia e reperfusão** nos grupos

isquêmicos quando comparado a variação de tonalidade de cor do lóbulo isquêmico do fígado com o espectro de cores da tabela padrão.

Ainda, durante a fase de **reperusão**, a avaliação macroscópica dos lóbulos do fígado nos grupos isquêmicos realizada com o equipamento APSCERR/R1T1, também revelou o aspecto mosaico localizado nos lóbulos isquêmicos.

Na literatura encontramos referencias dos aparelhos como o LiMon (Pulsion Medical System, Alemanha) e o DDG 2001 (Nihon Kohden, Japão), que são dispositivos de densitometria de corante de pulso transcutâneo não invasivo (PDD) capazes de medir o grau de depuração do ICV (27-28, 30, 60-62). Embora o aparelho APSCERR/R1T1 não realize a medição do grau de depuração do ICV no fígado, a análise fotométrica realizada diretamente no órgão por este aparelho pode ser considerada uma forma alternativa e imediata de analisar tal parâmetro.

Assim como o equipamento APSCERR, a sociedade internacional de cirurgia guiada por fluorescência – ISFGS também demonstra a utilização de outras câmeras infravermelhas capazes de observar a fluorescência o ICV no fígado, entre estes podemos citar como exemplo o braço robótico da Vinci Si (Califórnia, Estados Unidos). (54-57, 190).

Como demonstrado neste trabalho, o equipamento APSCERR/R1T1 também apresentou a capacidade de observar o ICV diretamente no fígado e além disso apresentou o diferencial de possuir a capacidade de se avaliar a variação gradativa de tonalidade de cor durante a isquemia e reperusão do órgão de forma a compará-la automaticamente com a escala de cores padrão, inferindo através da mesma o estado de preservação do fígado.

Nesta análise, a capacidade de avaliação fotométrica automática e em tempo real realizada pelo equipamento APSCERR/R1T1 proporcionou uma nova forma rápida e eficaz de se ressaltar o estado de preservação do fígado, fazendo com que dados sobre o mesmo estejam disponíveis antes mesmo do resultado de outros exames mais demorados e complexos para a avaliação do órgão.

Para demonstrar essas capacidades, foram realizados estudos bioquímicos, histológicos e de respiração mitocondrial que pudessem reforçar os dados obtidos e sua eficácia, aqui discutidos com a literatura.

O estudo bioquímico dessa pesquisa, através da avaliação da dosagem de AST e ALT, se mostrou estatisticamente semelhante entre os grupos GC e G-ICV, porém os grupos isquêmicos apresentaram diferença estatística entre os grupos GC e G-ICV.

É sabido que intervenções cirúrgicas hepáticas desencadeiam alterações das transaminases (AST/ALT), pois estas enzimas são consideradas marcadores sensíveis de dano hepatocelular (191-202). Em qualquer método I/R hepática utilizado seja ele: contínuo, intermitente, pré-condicionamento, total ou parcial, acabam por elevar os níveis séricos destas enzimas, pois esta alteração está diretamente associada com o tempo de hipóxia sofrida pelo órgão e da reperfusão do parênquima remanescente.

Estudos de I/R parcial do fígado de ratos, tanto com 30, 45 e 60 minutos de isquemia seguidos de 60, 120 minutos e 24 horas de reperfusão, demonstram a

elevação dos níveis séricos significativamente em relação a seus controles após as dosagens. Tanto nas dosagens da AST como nas da ALT, nossos resultados também apresentaram uma elevação significativa quando comparadas aos grupos GC e G-ICV, após os tempos de I/R hepática parcial, sendo coerentes com a literatura (203-204).

Em relação aos tempos de 15, 30 e 60 minutos de isquemia seguida de 60 minutos de reperfusão, nossos resultados demonstram que quanto maior o tempo de hipóxia sofrido pelo órgão, maior será a elevação das transaminases, ou seja, o tempo total de isquemia influencia diretamente em uma elevação de forma mais intensa nas concentrações destas enzimas, induzindo à um efeito deletério mais acentuado.

Quando comparado o grupo GC com o grupo G-ICV, os quais não sofreram isquemia, observa-se que não houve alteração significativas nos níveis séricos entre eles, indicando que o procedimento de I/R foram os responsáveis por essa elevação nos grupos isquêmicos, demonstrando uma similaridade com a literatura (191-202, 203-204).

Desta forma, os resultados dos estudos bioquímicos vêm a enfatizar os resultados observados com o equipamento APSCERR/R1T1, validando a perspectiva macroscópica analisada através do mesmo.

Para se reforçar o estudo com parâmetros histológicos, correlacionou-se o grau das lesões dos hepatócitos (colheita / preservação / revascularização), onde os mesmos se mostraram estatisticamente semelhantes entre os grupos, porém o grupo

isquêmico GNI60/R60-ICV apresentou uma distribuição de frequência com maior grau de lesão frente aos demais grupos.

Outro ponto que se tem conhecimento através da literatura é que intervenções cirúrgicas hepáticas também podem desencadear lesões aos hepatócitos, pois se faz necessário períodos de hipóxia ao órgão ou parte dele (191-202). O procedimento de I/R hepática, dependendo do tempo, pode desencadear diferentes tipos de lesões desde mais leves sendo consideradas reversíveis como mais acentuadas em que não são mais reversíveis.

Estudo em um modelo de I/R hepática parcial de 60 minutos em ratos, demonstrou que o grupo de operação simulada apresentou arquitetura celular conservada, enquanto o grupo de I/R apresentou arquitetura celular conservada, com bolsas isoladas de inflamação aguda e corpos apoptóticos (203). Em nossos resultados verificamos que entre grupos que não sofreram a isquemia GC e G-ICV se mostraram similares, não apresentando lesões histopatológicas.

Já em outros estudos de I/R parcial do fígado de ratos, tanto com 45 minutos como 60 minutos de isquemia seguidos de 60 min de reperfusão, também demonstram alterações histopatológicas com maior grau de lesão dos hepatócitos, apresentando dilatação sinusoidal, balonização e até mesmo necrose focal (203, 205-206). Nossos resultados se assemelham com a literatura, sendo ausente a presença de lesões nos grupos GC e G-ICV, nos quais não sofreram isquemia, e embora não chegue a ser estatisticamente significativo quando comparados ao grupo GNI60/R60-ICV, este foi o único grupo que apresentou lesões de esteatose macro ou microvesicular grau 3 (>50%) e necrose hepatocelular zonal.

Por fim, os resultados apresentados pelos estudos histológicos não apresentaram diferença estatística entre os grupos, assim acredita-se que um número de observações maiores poderia levar a apresentação de diferença estatística.

No presente estudo, os grupos GC e G-ICV, mais uma vez não demonstraram nenhuma inibição ou estimulação oriundo da administração do marcador ICV quanto a velocidade de respiração mitocondrial. Porém observou-se diferenças estatísticas quanto a velocidade de respiração mitocondrial com adição do ADP, FCCP e as razões do controle respiratório ADP/Oligomicina e FCCP/Oligomicina, entre os grupos isquêmicos e os grupos GC e G-ICV.

Nas últimas duas décadas os estudos com as avaliações mitocondriais, após I/R, vem sendo cada vez mais utilizados. Inicialmente com a técnica de mitocôndrias isoladas e recentemente com a utilização de um oxígrafo de grande resolução, capaz de realizar esses exames nas próprias biópsias, evitando assim, possíveis erros tanto durante o isolamento como na leitura dos gráficos gerados.

Sabe-se que quanto maior o tempo de isquemia as células acabam ficando sem o aporte sanguíneo e sem o oxigênio para sua respiração normal, gerando seus ATPs através da ausência do oxigênio, um processo lento no qual gera poucos ATPs (191-202). Esse tempo sem o aporte sanguíneo pode gerar disfunções celulares nas quais podem ser tanto reversíveis como irreversíveis, para isso também se avalia as possíveis alterações nos complexos da cadeia respiratória mitocondrial, afim de se mapear e orientar melhor os estudos.

Assim como nos estudos bioquímicos e histológicos, sabe-se que intervenções cirúrgicas hepáticas afetam a capacidade de respiração mitocondrial, uma vez que o procedimento de I/R tende a comprometer a atividade enzimática mitocondrial, estando este diretamente relacionada com o tempo de hipóxia e de reperfusão do órgão (191-202).

Diferentes estudos de I/R parcial do fígado de ratos, com tempo de I/R variados, também evidenciam que as mitocôndrias quando estimuladas pelo uso da ADP ou FCCP, apresentam uma diminuição significativa na respiração mitocondrial e consequentemente alterações nas razões dos controles respiratórios (205 - 207). Por sua vez, os resultados obtidos nesta pesquisa apresentaram-se alinhados com a literatura, sendo que os mesmos também exibiram um comprometimento no nível de respiração mitocondrial nos grupos isquêmicos quando comparado aos grupos GC e G-ICV, não isquêmicos, sendo detectado uma maior diferença na inibição da respiração mitocondrial quando se aumenta o tempo de exclusão do aporte sanguíneo ao órgão ou parte dele.

Resultado semelhante ao presente trabalho no qual o grupo de I/R foi submetido a isquemia hepática parcial por um período de 60 min e reperfusão por 4 horas, sendo que o grupo Sham foi submetido à mesma cirurgia com ausência da isquemia e reperfusão, o fígado dos ratos submetidos a I/R tiveram um aumento significativo tanto na dosagem da ALT como a presença de lesão histológica, quando comparados com grupo Sham, já nas avaliações mitocondriais os resultados demonstraram uma inibição da respiração mitocondrial, quando comparados ao grupo Sham (123). Nossos resultados também se assemelham com essas evidências,

sendo comprovado uma inibição durante a síntese de ATP, quando adicionamos a ADP, e com a adição da FCCP, apontando para uma alteração na integridade da membrana mitocondrial e demonstrando que quanto maior o tempo de hipóxia sofrido pelo órgão hepático, maior será a inibição da cadeia respiratória mitocondrial dos lobos que sofreram isquemia.

Com a adição da Oligomicina observamos o estado respiratório IV, a qual corresponde a respiração no estado basal, sendo responsável pela geração e manutenção do potencial de membrana mitocondrial e está relacionado com a integridade da membrana mitocondrial (207-212). Nossos resultados comprovam que a integridade da membrana mitocondrial foi mantida no estado IV, por apresentar níveis de respiração semelhantes em todos os grupos estudados não evidenciando diferenças significativas.

No presente estudo, os grupos GC e G-ICV, mais uma vez não demonstraram nenhuma inibição ou estimulação oriundo da administração do marcador ICV quanto a velocidade de respiração mitocondrial. Porém observou-se diferenças estatísticas quanto a velocidade de respiração mitocondrial com adição do ADP, FCCP e as razões do controle respiratório ADP/Oligomicina e FCCP/Oligomicina, entre os grupos isquêmicos e os grupos GC e G-ICV.

Quando comparado o grupo GC com o grupo G-ICV, os quais não sofreram isquemia, observa-se que não houve alteração significativas no nível de respiração mitocondrial, o que sugere que o procedimento de I/R foram os responsáveis pela inibição da respiração mitocondrial nos grupos isquêmicos, apresentando assim semelhança com a literatura.

Assim como no presente trabalho, nenhum efeito adverso da injeção de ICV foi observado por Dousse em um apanhado entre julho de 2017 e maio de 2019, onde foram realizados 76 transplantes com o uso de ICV, dos quais 6 receptores foram submetidos a retransplante, sem qualquer incidência de efeitos oriundos da administração do ICV (213).

Mais uma vez, os resultados obtidos nos estudos mitocondriais se demonstraram alinhados com os resultados observados com o equipamento APSCERR/R1T1, legitimando a perspectiva macroscópica observada através do mesmo.

De maneira geral, conforme observado no trabalho realizado, não houve diferença nas análises bioquímicas, histológicas e mitocondriais entre o grupo GC e o grupo G-ICV, podendo-se inferir que administração do marcador ICV não foi a responsável pelos distúrbios gerados nos exames bioquímicos, histológicos ou mitocondriais adversos dessa pesquisa, sendo os mesmos resultantes do procedimento de isquemia e reperfusão, conforme apoiado pela literatura (191-202).

Desta forma, comprovando-se durante todo o estudo e comparados com toda a literatura apresentada, pode-se observar o alinhamento dos efeitos apresentados tanto durante a fase de isquemia quando durante a reperfusão, obtidos com a utilização do equipamento APSCERR/R1T1, com os resultados das análises bioquímicas, histológicas e mitocondriais. O que vem a apoiar a efetividade do equipamento APSCERR/R1T1 em observar parâmetros fotométricos no fígado.

Tais parâmetros podem ser visualizados e comparados automaticamente com a escala de cores padrão através do equipamento APSCERR/R1T1, sendo os mesmos possivelmente uma nova forma de medição do estado de preservação do fígado apresentada com mais facilidade e rapidez do que os exames tradicionais.

Com a padronização do método de utilização do equipamento APSCERR/R1T1 parâmetros funcionais de grande interesse para a avaliação dinâmica da função hepática estariam, portanto, disponíveis, podendo também ser uma nova forma indireta para se identificar o grau de degradação do ICV diretamente no fígado (214-216).

Para tanto, o auxílio deste possível novo recurso poderia superar as limitações na detecção da função hepática sendo especialmente útil durante o procedimento cirúrgico onde a execução de exames em tempo real é notadamente desafiadora (217-218).

1.1. Limitações Desta Pesquisa

Como limitações desta fase da pesquisa podemos citar os seguintes itens:

- O presente trabalho não avaliou o grau de depuração do ICV.
- A fim de evitar o uso excessivo de animais nos experimentos não foi criado os grupos de operação simulada.

- Como os animais eram controles deles mesmos, para que não houvesse alterações secundárias da biopsia, optou-se por fazer a coleta da mesma apenas ao final de cada experimento.
- Existe a necessidade do equipamento APSCERR estar acoplado ao robô R1T1, sendo este um equipamento de preço elevado.

1.2. Perspectivas

Deste modo, acredita-se na melhoria da comunicação e facilidade de diagnóstico da lesão de isquemia e reperfusão oriundo da implementação do equipamento APSCERR/R1T1. Desta forma, pode-se reduzir o tempo total necessário para a execução do procedimento e tomada de decisões em campo operatório.

Contempla-se que a adoção desta nova tecnologia tem o potencial estratégico de verificar as lesões de modo fotométrico e futuramente se desenvolver um aplicativo para o uso em aparelhos digitais.

Com a implementação desta tecnologia, o equipamento APSCERR/R1T1 pode ser empregado para possibilitar uma melhor análise da gravidade das lesões de isquemia e reperfusão, através da utilização do ICV como auxiliar durante o procedimento cirurgico, almejando um incremento significativo no grau de efetividade e eficácia do procedimento de doação de órgãos como um todo, dado que a detecção do ICV durante a reperfusão do fígado realizada em tempo real pode ser utilizada como forma de orientação durante o procedimento cirúrgico.

Em síntese, o uso do equipamento APSCERR/R1T1 pode vir a ser de grande valia para a área da saúde, sendo que a implementação desta nova tecnologia no complexo procedimento de captação e transplante de órgãos pode auxiliar a prever as lesões hepáticas nos doadores e receptores.

Como referência para trabalhos futuros, durante a utilização do equipamento APSCERR/R1T1 nos experimentos desta pesquisa, foi possível observar a variação gradativa de tonalidade de em outros órgãos como o coração, rim e baço. Ressalta-se que o método tradicional de análise da depuração do ICV não é capaz de avaliar possíveis problemas com outros órgãos do paciente. Existindo ainda a possibilidade de detecção de alterações precoces do parênquima hepático.

Ainda como referência para trabalhos futuros, em um paralelo entre o equipamento APSCERR/R1T1 e o braço robótico da Vinci Si destaca-se que o aparelho APSCERR/R1T1 apresenta uma maior quantidade de iluminação infravermelho, maior resolução (1080p vs 720p) e maior número de formas de visualização (5 vs 1) frente ao da Vinci Si (54-57).

Como uma última referência para pesquisas futuras, também se sabe que é possível utilizar o equipamento APSCERR/R1T1 para detecção de doenças, como o caso da cirrose.

6. CONCLUSÃO

Foi possível realizar o aperfeiçoamento do Equipamento de Comunicação Cirúrgico Portátil Automático Com o Robô R1T1 - APSCERR que gerou uma patente de invenção registrada junto ao INPI, bem como a demonstração e descrição de sua utilização e capacidades para detecção de alterações hepáticas.

As funcionalidades demonstradas por tal equipamento poderão ser de grande valia para a área da saúde, sendo que se pode comprovar a precisão da capacidade de detecção do marcador indociana verde através do equipamento APSCERR/R1T1.

Ficou constatado a incapacidade de, a olho nu, detectar variações macroscópicas no fígado provenientes da administração do marcador ICV.

A administração do marcado ICV mostrou-se útil para auxiliar na avaliação da capacidade de detectar a variação gradativa de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão através do equipamento APSCERR/R1T1.

Com a criação da escala de cores padrão, foi possível criar um método de referência de forma a comparar os resultados da variação de tonalidade de cor no fígado durante a isquemia e reperfusão através da utilização do equipamento APSCERR/R1T1.

O marcador ICV apresentou-se de forma não nociva ao organismo de ratos Wistar no decurso dos experimentos, análise comprovada através de exames bioquímicos, histológicos e de respiração mitocondrial.

Concluiu-se que o equipamento APSCERR/R1T1 possui a capacidade de avaliação fotométrica de características hepáticas, concebendo-se assim uma forma alternativa para uma possível avaliação rápida macroscópica do estado de saúde e grau de reperfusão do fígado.

Por fim, a utilização da Escala de Cores Padrão poderá servir como modelo padrão de referência para futuros trabalhos de análise fotométrica utilizando o marcador ICV.

7. REFERÊNCIAS

1. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO. [Internet]. Disponível em: <http://www.abto.org.br>. Acesso: 22/03/2020.
2. Ratz, W. Indicadores de Desempenho na Logística do Sistema Nacional de Transplantes: Um estudo de caso. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2016.
3. Info Escola. Transplante de Córnea [Internet]. Disponível em: <http://www.infoescola.com/medicina/transplante-de-cornea/>. Acesso: 14/04/2020.
4. Stahl JE, Kreke JE, Malek FAA, Schaefer AJ, Vacanti J. Consequences of Cold-Ischemia Time on Primary Nonfunction and Patient and Graft Survival in Liver Transplantation: A Meta-Analysis. PLoS One 2011;3(6): e2468.
5. Portal Brasil. Tempo de Isquemia de Cada Órgão [Internet]. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2016/09/tempo-de-isquemia.jpg/view>. Acesso: 11/03/2020.
6. Fuzzati R. Organ Transplantation Management. Swiss Federal Institute of Technology Lausanne - EPFL. Technical Report. 2005; Nº: IC/2005/022.
7. Agostinho CF, Monteiro, VL; Lima Jr., Fontes, O. Análise do processo de transporte, manuseio e identificação da caixa para acondicionamento de órgãos para transplante. 2010. p. 1-12. Disponível em: http://www.academia.edu/4225308/An%C3%A1lise_do_processo_de_transport_e_manuseio_e_identifica%C3%A7%C3%A3o_da_caixa_para_acondicionament_o_de_%C3%B3rg%C3%A3os_para_transplantes. Acesso: 23/02/2019.

8. Desschans, B.; Van Gelder, F.; Van Hees, D.; De Rocy, J.; Monbaliu, D.; Aerts, R.; Coosemans, W.; Pirenne, J. Evolution in Allocation Rules for Renal, Hepatic, Pancreatic and Intestinal Grafts. *Acta Chir Belg*, 2014;108:31-34.
9. Genç, R. The Logistics Management and Coordination in Procurement Phase of Organ Transplantation. *Tohoku J. Exp. Med. (TTJEM)*, v.216, n. 4, p. 287– 296. Istanbul, 2014.
10. World Health Organization. Telemedicine: Opportunities and Developments in Member States. Geneva: WHO. Global Observatory for eHealth, 2009. 94p.
11. Cao DM, Shuji S, Yasuaki A, Nobuhiro T, Kuriko K, Koji O, et al. Emerging Technologies for Telemedicine. *Korean J Radiol* 2015; 13(4): S21-S30.
12. Lobo, L.C. Inteligência Artificial e Medicina. *Revista Brasileira de Educação em Medicina*, Jun. 2017, v. 41, n. 2, p. 185-193. 2017.
13. Meirelles Júnior, R.F. et al. Liver Transplantation: history, outcomes and perspectives. *Einstein (São Paulo)*. Mar. 2015. V. 13, n. 1, p. 311-316. 2015.
14. Mies S. Transplante de Fígado. *Revista Assoc. Med. Bras.* Jun 1998, v. 44, nº 2, p. 127-134. 1998.
15. Ferreira CT; Vieira, S.M.G.; Silveira, T.R.; Transplante hepático. *Jornal de Pediatria*. 2000. 76 (Supl. 2), p. 198-208. 2000.
16. Ferrazzo, S. et al. Specialist Service in Liver transplant in a university hospital: a case study. *Texto & Contexto – Enfermagem*, 2017, v. 26, n. 2, 2017.
17. Castro-E-Silva Jr, O. Transplante de Fígado: indicação e sobrevida. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 2002, v. 17, suppl. 3, p. 83-91, 2003.
18. Marroni, C.A. et al. Transplante Hepático em Adultos. *Revista AMRIGS*. 2003. Porto Alegre, v. 47, n.1, p.29-37, 2003.

19. ABTO, Registro Brasileiro de Transplantes – Janeiro/Junho – 2020, São Paulo: ABTO ANO XXIV Nº 2, 2020.
20. ABTO, Registro Brasileiro de Transplantes – Janeiro/Junho – 2019, São Paulo: ABTO ANO XXIII, Nº 2, 2019.
21. Silva, J.O. et al. Robótica aplicada à saúde: uma revisão histórica e comparativa da cirurgia robótica. In: VIII Fórum de Pesquisa, Ensino, Extensão e Gestão – FEPEG, 8., 2014, Montes Claros: Universidade Estadual de Montes Claros, 2014.
22. Siqueira-Batista, R. et al. Robotic Surgery: Bioethical Aspects. ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva. 2016, v. 29, n.4, p. 287-290. 2016.
23. Secretaria de Saúde de São Paulo [Internet]. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/programas_projetos/transplantes. Acesso: 15/07/2020.
24. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO. Doação de órgão e tecidos. Entenda a doação de órgãos [Internet]. Disponível em: <http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/entendadoacao.pdf>. Acesso: 21/02/2020.
25. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO. Doação de órgãos e tecido [Internet]. Disponível em: <http://www.abto.org.br/abtov03>. Acesso: 21/02/2020.
26. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos - ABTO. Manual de Transplante Renal [Internet]. Disponível em: http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/manual_do_transplantado/manual_transplante_rim.pdf. Acesso: 21/02/2020.

27. Vos JJ, Wietasch JK, Absalom AR, Hendriks HG, Scheeren TW. Green light for liver function monitoring using indocyanine green? An overview of current clinical applications. *Anaesthesia*. 2014;69:1364-1376.
28. Halle BM, Poulsen TD, Pedersen HP. Indocyanine green plasma disappearance rate as dynamic liver function test in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2014;58:1214-1219.
29. Mizuguchi T, Kawamoto M, Meguro M, Hui TT, Hirata K. Preoperative liver function assessments to estimate the prognosis and safety of liver resections. *Surg Today*. 2014;44:1-10.
30. Wagener G. Assessment of hepatic function, operative candidacy, and medical management after liver resection in the patient with underlying liver disease. *Semin Liver Dis*. 2013;33:204-212.
31. Sakka SG. Assessing liver function. *Curr Opin Crit Care*. 2007;13:207-214.
32. Benya R, Quintana J, Brundage B. Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1989;17:231-233.
33. Hoekstra LT, de Graaf W, Nibourg GA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, van Gulik TM. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Ann Surg*. 2013;257:27-36.
34. Slack A, Ladher N, Wendon J. Acute hepatic failure. In Wagener G, editor. *Liver Anesthesiology and Critical care Medicine*. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer; 2012. pp. 21-42.

35. Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2005;12:16-22.
36. Leevy CM, Mendenhall CL, Lesko w, Howard MM. Estimation of hepatic blood flow with indocyanine green. *J Clin Invest.* 1962;41:1169-1179.
37. Lau H, Man K, Fan ST, Yu WC, Lo CM, Wong J. Evaluation of preoperative hepatic function in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. *Br J Surg.* 1997;84:1255-1259.
38. Pessayre D, Lebrec D, Descatoire V, Peignoux M, Benhamou JP. Mechanism for reduced drug clearance in patients with cirrhosis. *Gastroenterology.* 1978;74:566-571.
39. Eaiocchi GL, Diana M, Eoni L. Indocyanine green-based fluorescence imaging in visceral and hepatobiliary and pancreatic surgery: State of the art and future directions. *World J Gastroenterol.* 24:2921-30. 2018.
40. Shum CF, Bahler CD, Low PS, et al. Novel use of folate-targeted intraoperative fluorescence, otl38, in robot-assisted laparoscopic partial nephrectomy: report of the first three cases. *J Endourol Case Rep.* 2016;2:189–197.
41. Ishizawa T, Tamura S, Masuda K, et al. Intraoperative fluorescent cholangiography using indocyanine green: a biliary road map for safe surgery. *J Am Coll Surg.* 208:e1-4. 2009.
42. Marino MV, Podda M, Fernandez CC, et al. The application of indocyanine green-fluorescence imaging during robotic-assisted liver resection for malignant tumors: a single-arm feasibility cohort study. *HPE (Oxford).* 07.013. 2019.

43. Kobayashi Y, Kawaguchi Y, Kobayashi K, et al. Portal vein territory identification using indocyanine green fluorescence imaging: Technical details and short-term outcomes. *J Surg Oncol*. 116:921-31. 2017.
44. Marino MV, Euiles RS, Gomez RM. The Application of Indocyanine Green (ICG) Staining Technique During Robotic-Assisted Right Hepatectomy: with Video. *J Gastrointest Surg*. 23:2312-3. 2019.
45. Vlek SL, Van Dam DA, Rubinstein SM, et al. Eiliary tract visualization using near-infrared imaging with indocyanine green during laparoscopic cholecystectomy: results of a systematic review. *Surg Endosc* 2017;31:2731-42.
46. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Pätälä T, Spillmann T, Tuchin VV, Venermo M, Välisuo P. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging*. 2012:940585. 2012.
47. Kose E, Kahramangil E, Aydin H, et al. A comparison of indocyanine green fluorescence and laparoscopic ultrasound for detection of liver tumors. *HPE (Oxford)* 2019.10.005.
48. Purich K, Dang JT, Poonja A, Sun WYL, Bigam D, Birch D, Karmali S. Intraoperative fluorescence imaging with indocyanine green in hepatic resection for malignancy: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *Surg Endosc*. 34(7):2891-2903. 2020.
49. Nakaseko Y, Ishizawa T, Saiura A. Fluorescence-guided surgery for liver tumors. *J Surg Oncol* 2018;118:324-31.
50. Kudo H, Ishizawa T, Tani K, et al. Visualization of subcapsular hepatic malignancy by indocyanine-green fluorescence imaging during laparoscopic hepatectomy. *Surg Endosc*. 28:2504-8. 2014.

51. Eoogerd LS, Handgraaf HJ, Lam HD, et al. Laparoscopic detection and resection of occult liver tumors of multiple cancer types using real-time near-infrared fluorescence guidance. *Surg Endosc.* 31:952-61. 2017.
52. Marino MV, Di Saverio S, Podda M, et al. The Application of Indocyanine Green Fluorescence Imaging During Robotic Liver Resection: A Case-Matched Study. *World J Surg* 2019;43:2595-606.
53. Stammes MA, Bugby SL, Porta T, et al. Modalities for image- and molecular-guided cancer surgery. *Br J Surg.* 2018;105:e69–e83.
54. Da Vinci by Intuitive [Internet]. Disponível em: <https://www.intuitive.com>. Acesso: 28/04/2021.
55. Marino M, Latteri A, Ruiz MG, The application of indocyanine green fluorescence as imaging modality during robotic liver surgery. *Laparoscopic Surgery.* 4, 0. 2020.
56. Cheung TT, Ma KW, She WH, Dai WC, Tsang SHY, Chan ACY, Chok KSH, Lo CM. Pure laparoscopic hepatectomy with augmented reality-assisted indocyanine green fluorescence versus open hepatectomy for hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis: A propensity analysis at a single center. *Asian J Endosc Surg.* 11(2):104-111. 2018.
57. Kaneko J, Kokudo T, Inagaki Y, et al. Innovative treatment for hepatocellular carcinoma (HCC). *Transl Gastroenterol Hepatol* 2018;3:78.
58. Marino MV, Di Saverio S, Podda M, et al. The Application of Indocyanine Green Fluorescence Imaging During Robotic Liver Resection: A Case-Matched Study. *World J Surg* 2019;43:2595-606.
59. Van Manen L, Handgraaf HJM, Diana M, Dijkstra J, Ishizawa T, Vahrmeijer AL, Mieog JSD. A practical guide for the use of indocyanine green and methylene blue

- in fluorescence-guided abdominal surgery. *J Surg Oncol*. 2018 Aug;118(2):283-300.
60. Purcell R, Kruger P, Jones M. Indocyanine green elimination: a comparison of the limon and serial blood sampling methods. *ANZ Journal of Surgery*, 76:75-77, 2006.
 61. Russolillo N, Forchino F, Conci S, Mele C, et al. Validation of the albumin–indocyanine green evaluation model in patients with resected hepatocellular carcinoma and comparison with the albumin–bilirubin score, *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, 10.1002. 597, 26, 1, 51-57, 2019.
 62. Kovac N, Peric M. Liver function assessment by indocyanine green plasma disappearance rate in patients with intra-abdominal hypertension after “non-hepatic” abdominal surgery. *Current Medical Research and Opinion*. 34, 10, 1741-1746, 2018.
 63. Lisotti A, Azzaroli F, Buonfiglioli F, Montagnani M, Cecinato P, Turco L, Calvanese C, Simoni P, Guardigli M, Arena R, et al. Indocyanine green retention test as a noninvasive marker of portal hypertension and esophageal varices in compensated liver cirrhosis. *Hepatology*. 2014;59:643-650.
 64. Majlesara A, Golriz M, Hafezi M, Saffari A, Stenau E, Maier-Hein L, Müller-Stich BP, Mehrabi A. Indocyanine green fluorescence imaging in hepatobiliary surgery. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 17:208-215. 2017.
 65. Dousse D, Vibert E, Nicolas Q, Terasawa M, Cano L, Allard MA, Salloum C, Ciaccio O, Pittau G, Sa Cunha A, Cherqui D, Adam R, Samuel D, Vignon-Clementel I, Golse N. Indocyanine Green Fluorescence Imaging to Predict Graft Survival After Orthotopic Liver Transplantation: A Pilot Study. *Liver Transpl*. 26(10):1263-1274. 2020.

66. Plevris JN, Jalan R, Bzeizi KI, Dollinger MM, Lee A, Garden OJ, Hayes PC. Indocyanine green clearance reflects reperfusion injury following liver transplantation and is an early predictor of graft function. *Journal of Hepatology*. 30, 1, 142-148. 1999.
67. Gonzalez EH, Nacif LS, Cassenote AJF, Pinheiro RS, Rocha-Santos V, Martino RB, Waisberg DR, Arantes RM, Ducatti L, Haddad L, Galvão F, Andraus W, D'Albuquerque LC. Early Graft Dysfunction Evaluation by Indocyanine Green Plasma Clearance Rate in the Immediate Postoperative Period After Liver Transplantation. *Transplantation Proceedings*. 52, 5, 1336-1339, 2020.
68. Ryu CH, Lee SK. Biliary strictures after liver transplantation. *Gut Liver*. 2011;5(2):133-42.
69. Lordan JT, Worthington TR, Quiney N, Fawcett WJ, Karanjia ND. Operative mortality, blood loss and the use of Pringle manoeuvres in 526 consecutive liver resections. *Ann R Coll Surg Engl*. 2009;91(7):578-82.
70. Virani S, Michaelson JS, Hutter MM, Lancaster RT, Warshaw AL, Henderson WG, et al. Morbidity and mortality after liver resection: results of the patient safety in surgery study. *J Am Coll Surg*. 2007;204(6):1284-92.
71. Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, Haagsma EB. Biliary complications after liver transplantation: a review. *Scand J Gastroenterol*. 2006;(243):89-101.
72. Buell JF, Rosen S, Yoshida A, Labow D, Limsrichamrern S, Cronin DC, et al. Hepatic resection: effective treatment for primary and secondary tumours. *Surgery*. 2000;128(4):686-93.

73. Laurent C, Sa Cunha A, Couderc P, Rullier E, Saric J. Influence of postoperative morbidity on long-term survival following liver resection for colorectal metastases. *Br J Surg.* 2003;90(9):1131-6.
74. Teoh NC. Hepatic ischemia reperfusion injury: Contemporary perspectives on pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection - the good, bad and deadly. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;(26)180-87.
75. Jones RT, Toledo-Pereyra LH, Quesnelle KM. Selectins in liver ischemia and reperfusion injury. *J Invest Surg.* 2015;28(5):292-300.
76. Guan LY, Fu PY, Li PD, Li ZN, Liu HY, Xin MG, et al. Mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effects of nitric oxide. *World J Gastrointest Surg.* 2014;6(7):122-8.
77. Peralta C, Jiménez-Castro MB, Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu. *J Hepatol.* 2013;59(5):1094-106.
78. Datta G, Fuller BJ, Davidson BR. Molecular mechanisms of liver ischemia reperfusion injury: insights from transgenic knockout models. *World J Gastroenterol.* 2013;19(11):1683-98.
79. Cannistrà M, Ruggiero M, Zullo A, Gallelli G, Serafini S, Maria M, et al. Hepatic ischemia reperfusion injury: a systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers. *Int J Surg.* 2016;33:57-70.
80. Pringle JH. V. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due to Trauma. *Ann Surg.* 1908;48(4):541-9.
81. Nakazato PCG, Victorino JP, Fina CF, Mendes KDS, Gomes MCJ, Evora PRB, et al. Liver ischemia and reperfusion injury. Pathophysiology and new horizons in preconditioning and therapy. *Acta Cir Bras.* 2018; 33(8):723-35.

82. Freitas SH, Dória RG, Bueno RS, Rocha WB, Jair Filho RE, Moraes JR, et al. Evaluation of potential changes in liver and lung tissue of rats in an ischemia-reperfusion injury model (modified pringle maneuver). *PLoS One*. 2017;12(6):e0178665.
83. Gracia-Sancho J, Casillas-Ramírez A, Peralta C. Molecular pathways in protecting the liver from ischaemia/reperfusion injury: a 2015 update. *Clin Sci (Lond)*. 2015;129(4):345-62.
84. Van Riel WG, van Golen RF, Reiniers MJ, Heger M, van Gulik TM. How much ischemia can the liver tolerate during resection? *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2016;5(1):58-71.
85. Tártaro RR, Jorge GL, Leonardi MI, Escanhoela CAF, Leonardi LS, Boin IFSF. No protective function found in Wistar rats submitted to long ischemia time and reperfusion after intermittent clamping of the total hepatic pedicle. *Transplant Proc*. 2015 May;47(4):1038-41.
86. Steenks M, Van Baal MC, Nieuwenhuijs VB, de Bruijn MT, Schiesser M, Teo MH, et al. Intermittent ischaemia maintains function after ischaemia reperfusion in steatotic livers. *HPB (Oxford)*. 2010;12(4):250-61.
87. Canedo LF, Lima GV, Machado MC. Pulmonary effects after partial liver ischemia and reperfusion: experimental model. *Rev Col Bras Cir*. 2012;39(3):216-21.
88. Teixeira AR, Molan NT, Kubrusly MS, Bellodi-Privato M, Coelho AM, Leite KR, et al. Postconditioning ameliorates lipid peroxidation in liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Acta Cir Bras*. 2009;24(1):52-6.

89. Silva FN, Refinetti RA, Eulálio JMR. Biochemical assessment of ischemic preconditioning after hepatic ischemia and reperfusion in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2006;33(6):393-7.
90. Castro e Silva Jr O, Centurion S, Pacheco EG, Brisotti JL, Oliveira AF, Sasso KD. Basics aspects of the ischemia reperfusion injury and of the ischemic preconditioning. *Acta Cir Bras.* 2002;17(3):96-100.
91. Miranda LEC, Viaro F, Ceneviva R, Évora PRB. The experimental basis of hepatic ischemia-reperfusion injury: review. *Acta Cir Bras.* 2004;19(1):3-12.
92. Nieuwenhuijs VB, Bruijn MT, Schiesser M, Morphett A, Padbury RT, Barritt GJ. Ischemic preconditioning and intermittent ischemia preserve bile flow in a rat model of ischemia reperfusion injury. *Dig Dis Sci.* 2007;52(5):1159-67.
93. Cannon JA. Brief report. *Transplant Bull.* 1956;3:7.
94. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, Hermann G, Brittain RS, Waddell WR. Hemotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet.* 1963;117:659-76.
95. Gotoh M, Monden M, Sakon M, Kanai T, Umeshita K, Nagano H, et al. Hilar lobar vascular occlusion for hepatic resection. *J Am Coll Surg.* 1994;178(1):6-10.
96. Huguet C, Gavelli A, Bona S. Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour. *J Am Coll Surg.* 1994;178(5):454-8.
97. Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ. Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *J Biol Chem.* 2003;278(38):36027-31.

98. Quaresma AB, d'Campora AJ, Tramonte R, Farias DC, Joly FS. Histological study of the liver and biochemistry of the blood of Wistar rats following ligation of right hepatic duct. *Acta Cir Bras.* 2007;22(1):68-78.
99. Elias D, Desruennes E, Lasser P. Prolonged intermittent clamping of the portal triad during hepatectomy. *Br J Surg.* 1991;78(1):42-4.
100. Belghiti J, Noun R, Malafosse R, Jagot P, Sauvanet A, Pierangeli F, et al. Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study. *Ann Surg.* 1999;229(3):369-75.
101. Radojkovic M, Stojanovic M, Stanojevic G, Radojkovic D, Gligorijevic J, Ilic I, et al. Ischemic preconditioning vs adenosine vs prostaglandin E1 for protection against liver ischemia/reperfusion injury. *Braz J Med Biol Res.* 2017;Jul 20;50(8):e6185.
102. Kim YI, Ishii T, Aramaki M, Nakashima K, Yoshida T, Kobayashi M. The Pringle maneuver induces only partial ischemia of the liver. *Hepatogastroenterology.* 1995;42(2):169-71.
103. Steenks M, Van Baal MC, Nieuwenhuijs VB, de Bruijn MT, Schiesser M, Teo MH, et al. Intermittent ischaemia maintains function after ischaemia reperfusion in steatotic livers. *HPB (Oxford).* 2010;12(4):250-61.
104. Jorge GL, Leonardi LS, Boin IFSF, Silva Jr OC, Escanhoela CAF. A new method for the experimental induction of secundar biliar cirrhosis in Wistar rats. *Acta Cir Bras.* 2001;16(2):75-81.
105. Gomes HM, Serigiolle LC, Rodrigues DA, Lopes CM, Studart SV, Leme PL. Unfeasible experimental model of normothermic hepatic ischemia and reperfusion in rats using the Pringle maneuver. *Arq Bras Cir Dig.* 2014;27(3):196-200.

106. Dixon E, Vollmer CM Jr, Bathe OF, Sutherland F. Vascular occlusion to decrease blood loss during hepatic resection. *Am J Surg*. 2005;190(1):75-86.
107. Capussotti L, Nuzzo G, Polastri R, Giuliani F, Muratore A, Giovannini I. Continuous versus intermittent portal triad clamping during hepatectomy in cirrhosis. Results of a prospective, randomized clinical trial. *Hepatogastroenterology*. 2003;50(52):1073-7.
108. Laborda Gálvez J, Laborda Gálvez J. Salguero Villadiego M; Blanco Pampín J (eds.). *Histopatología Forense*. Madrid: Ministerio de Justicia. Secretaría General Técnica. 2015. 389p. 376 Ilustraciones en color y tablas. ISBN: 978-84-7787-420-1. NIPO: 051-15-014-3. Scielo. 2020. Disponible em: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-76062017000200115&script=sci_arttext&lng=en. Acceso: 23/09/2020.
109. Álvarez P. *Técnicas histológicas protocolos*. Academia. 2016. Disponible em: https://www.academia.edu/30542346/T%C3%A9cnicas_histol%C3%B3gicas_PROTOCOLOS. Acceso: 10/07/2020.
110. El-Nageh M, Maynard J, Cordner S. *Quality Systems for Anatomical and Forensic Pathology Laboratories*. Alexandría, Egipto: World Health Organization; 1999. Disponible em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/119603/dsa36.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acceso: 12/07/2020
111. Ross M, Pawlina W. *Ross Histología Texto y Atlas*. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2012.
112. Santos Vidal S. *Tinción Hematoxilina-Eosina*. Universidad Nacional De Educación a Distancia. 2017. Disponible em: <http://e->

spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-

Ssantos/Santos_Vidal_Sara_TFM.pdf. Acesso: 24/07/2020.

113. Bryant P. [Internet]. Tissue sampling, processing and staining. 2020. Disponível em: <https://tissuesampling.weebly.com/staining.html>. Acesso: 27/07/2020.
114. Strifler G, Tuboly E, Szél E, Kaszonyi E, Cao C, Kaszaki J, et al. Inhaled Methane Limits the Mitochondrial Electron Transport Chain Dysfunction during Experimental Liver Ischemia-Reperfusion Injury. *PLoS One*. 2016; Jan 7;11(1).
115. González-Flecha B, Cutrin JC, Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J Clin. Invest.* 1993. Feb;91(2):456-64.
116. Prieto I, Monsalve M. ROS homeostasis, a key determinant in liver ischemic-preconditioning. *Redox Biol.* 2017 Aug;12:1020-25.
117. Weiss SJ. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand.* 1986;548:9-37.
118. Mitnacht SJr, Faber JL. Reversal of ischemia mitochondrial dysfunction. *J. Biol Chem.* 1981;256(7):3199-206.
119. Vercesi AE. The role of Ca²⁺ in the process of mitochondrial damage associated with oxidative stress. *Química Nova.* 1993;16:381-4.
120. Rudiger HA, Koo J, Kang KJ, Sindram D, Hans MR, Pierre AC. Comparison of ischemic preconditioning, intermittent and continuous inflow occlusion in the murine liver. *Ann Surg.* 2002 Mar;235(3): 400-7.
121. Reiniers MJ, van Golen RF, van Gulik TM, Heger M. Reactive oxygen and nitrogen species in steatotic hepatocytes: a molecular perspective on the

- pathophysiology of ischemia-reperfusion injury in the fatty liver *Antioxid. Redox Signal*, 2014,21:1119-42.
122. Sun K, Liu ZS, Sun Q. Role of mitochondria in cell apoptosis during hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effect of ischemic postconditioning. *World J. Gastroenterol.* 2004,10:1934-8.
 123. Chu MJ, Premkumar R, Hickey AJR, Jiang Y, Delahunt B, Phillips ARJ, et al. Steatotic livers are susceptible to normothermic ischemia-reperfusion injury from mitochondrial Complex-I dysfunction. *World J Gastroenterol.* 2016 May 21; 22(19): 4673-84.
 124. Glanemann M, Vollmar B, Nussler AK, Schaefer T, Neuhaus P, Menges MD. Ischemic preconditioning protects from hepatic ischemia/reperfusion-injury by preservation of microcirculation and mitochondrial redox-state. *J Hepatol.* 2003;38(1):59-66.
 125. Hand SC, Menze MA. Mitochondria in energy-limited states: mechanisms that blunt the signaling of cell death. *J Exp Biol.* 2008;211:1829–40.
 126. Rolo AP, Teodoro JS, Peralta C, Rosello-Catafau J, Palmeira CM. Prevention of I/R injury in fatty livers by ischemic preconditioning is associated with increased mitochondrial tolerance: the key role of ATPsynthase and mitochondrial permeability transition. *Transpl. Int.* 2009; 22:1081-90.
 127. La Guardia PG, Alberici LC, Ravagnani FG, Catharino RR, Vercesi AE. Protection of rat skeletal muscle fibers by either L-carnitine or coenzyme Q10 against statins toxicity mediated by mitochondrial reactive oxygen generation. *Front Physiol.* 2013;4:103.

128. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003;552(2):335-44.
129. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J.* 1973;134(3):707-16.
130. Chen CH, Budas GR, Churchill EN, Disatnik MH, Hurley TD, Mochly-Rosen D. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart. *Science* 2008;321(5895):1493e5.
131. Liu SS. Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria. *Biosci Rep.* 1997;17(3):259-72.
132. Ravagnan L, Roumier T, Kroemer G. Mitochondria, the killer organelles and their weapons. *J Cell Physiol.* 2002;192(2):131-7.
133. Kancirova I, Jasova M, Murarikova M, Carnicka S, Sumbalova Z, Ulicna O, et al. Adaptive changes of rat heart mitochondrial respiration: response of remote ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res.* 2014;103(1):S74-5.
134. Chu MJ, Hickey AJ, Jiang Y, Petzer A, Bartlett AS, Phillips AR. Mitochondrial dysfunction in steatotic rat livers occurs because a defect in Complex-I makes the liver susceptible to prolonged cold ischemia. *Liver Transpl.* 2015;21(3):396-407.
135. Velho JA, Okanobo H, Degasperi GR, Matsumoto MY, Alberici LC, Cosso RG, et al. Statins induce calcium-dependent mitochondrial permeability transition. *Toxicology.* 2006;219(1-3):124-32.
136. Tavintharan S, Ong CN, Jeyaseelan K, Sivakumar M, Lim SC, Sum CF. Reduced mitochondrial coenzyme Q10 levels in HepG2 cells treated with high-dose

- simvastatin: a possible role in statin-induced hepatotoxicity? *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007;223(2):173-9.
137. Sirvent P, Bordenave S, Vermaelen M, Roels B, Vassort G, Mercier J, et al. Simvastatin induces impairment in skeletal muscle while heart is protected. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;338(3):1426-34.
 138. Project Company. R1T1 Robot. Disponível em: <https://www.projectcompany.org>. Acesso: 26/01/2021.
 139. Globo.com (Brasil) (Org.). Primeiro robô de telepresença do Brasil vira parte da rotina de hospital. 2014. Disponível em: <http://g1.globo.com/pr/norte-noroeste/noticia/2014/11/primeiro-robo-de-telepresenca-do-brasil-vira-parte-da-rotina-de-hospital.html>. Acesso: 15/03/2020.
 140. Imai FH, Berns RS, Tzeng DI-Y. A Comparative Analysis of Spectral Reflectance Estimated in Various Spaces Using a Trichromatic Camera System. *J. Imag. Sci. Tech.* 2000; 44(4): 280-288.
 141. Kim WH, Hwang J, Sikora T. Document Capturing Method with a Camera Using Robust Feature Points Detection. *Dig. Image Comp. Tech. Appl. (DICTA)* 2011, pp. 678-682, 2011.
 142. Akyildiz IF, Melodia T, Chowdhury KR. A survey on wireless multimedia sensor networks. *Comput. Netw.* 2007; 51(4) 921-960.
 143. Diffie W; Hellman ME. New directions in cryptography, *Information Theory. IEEE Transactions on.* 1976; 22(1):644-654.
 144. Rivest RL, Shamir A, Adleman L. A method for obtaining digital signatures and public-key cryptosystems. *Commun. ACM* 21. 1978; (21):120-126

145. Daemen J, Rijmen V. The Design of Rijndael AES - The Advanced Encryption Standard. Springer Verlag, 2002, 238p.
146. Li C, Huawei Technologies Co Ltd. A Method, System and Communication Device for Generating Session Cryptographic. Patente EP2120389. 2009.
147. Wang Y, Claypool M. RealTracer-Tools for Measuring the Performance of RealVideo on the Internet. In: Multi-media Tools and Applications. Springer Science. 2005; 27(1):411-430.
148. Gazula K. Novel One Integrated System For Real-Time Virtual Face-To-Face Encounters. Patente US 2011/0106557 A1. 2009.
149. Dianin AH, Tártaro RDR, de Lourdes Jorge G, Oliveira da Silva AM, Cristina de Ataíde E, Santana Ferreira Boin IF. Results of Green Indocyanine in the Use of the R1T1 Robot as Aid in the Pre-operative Process of Hepatic Organ Transplant: Experiment in Wistar Rats. Transplant Proc. 2020 Jun;52(5):1397-1398.
150. Dianin AH, Tártaro RDR, de Lourdes Jorge G, Oliveira da Silva AM, Cristina de Ataíde E, Santana Ferreira Boin IF. A Utilização Do Robô R1T1 E Do Equipamento APSCERR Como Auxiliar No Processo Préoperatório Do Transplante De Órgão Hepático. Difusão do Conhecimento Através das Diferentes áreas da Medicina. 2019; 3: 161-176.
151. Dianin AH, Tártaro RDR, de Lourdes Jorge G, Oliveira da Silva AM, Cristina de Ataíde E, Santana Ferreira Boin IF. Equipamento de Comunicação Cirúrgico Portátil Automático com o Robô R1T1 – APSCERR. São Paulo: Atena Editora, 2019.

152. Sidney M. Newhall, Dorothy Nickerson, and Deane B. Judd, Final Report of the O.S.A. Subcommittee on the Spacing of the Munsell Colors, *J. Opt. Soc. Am.* 33, 385-418. 1943.
153. AH Munsell, A Color Notation (Munsell Color Company, Inc., Baltimore, Maryland), eighth edition, edited and rearranged. *Journal Of The Optical Society Of America*. 1936.
154. Dorothy Nickerson, History of the Munsell Color System and Its Scientific Application, *J. Opt. Soc. Am.* 30, 575-586. 1940.
155. John E. Tyler and Arthur C. Hardy, An Analysis of the Original Munsell Color System, *J. Opt. Soc. Am.* 30, 587-590. 1940.
156. Renzo Shamey, Rolf G. Kuehni, Renzo Shamey, Rolf G. Kuehni, Munsell, Albert Henry 1858–1918, *Pioneers of Color Science*, 10.1007/978-3-319-30811-1, 249-252, 2020.
157. Roy S. Berns, Bibliography, Billmeyer and Saltzman's *Principles of Color Technology*, 10.1002/9781119367314, 221-235, 2019.
158. A.K. Roy Choudhury, Popular colour order systems, *Principles of Colour and Appearance Measurement*, 10.1533/9781782423881.26, 26-54, 2015.
159. T.M. Goodman, International standards for colour, *Colour Design*, 10.1016/B978-0-08-101270-3.00018-7, 417-452, 2012.
160. ASTM E308-15. Standard method for computing the colors of objects by using the CIE system. 2015.
161. Li, CJ, Luo, MR, Rigg, B. A new method for computing optimum weights for calculating CIE tristimulus values. *Color Res Appl*; 29: 91–103. 2004.

162. Luo, MR, Cui, GH, Rigg, B. The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. *Color Res Appl*; 26: 340–350. 2001.
163. BS EN ISO 11664-3: 2013 . Colorimetry-Part 3: CIE tristimulus values. Joint Publ. ISO11664-3: 2012.
164. Roufs, J. A. J. Light as a true visual quantity : principles of measurement. CIE publication; Vol. 41.Commission Internationale de l'Éclairage. 1978.
165. Ernst Ganz and Hartmut Kurt Andreas Pauli, Whiteness and tint formulas of the Commission Internationale de l'Eclairage: approximations in the $L^*a^*b^*$ color space, *Appl. Opt.* 34, 2998-2999. 1995.
166. Ibraheem, N. A., Hasan, M. M., Khan, R. Z., & Mishra, P. K. Understanding color models: a review. *ARNP Journal of science and technology*, 2(3), 265-275. 2012.
167. R. S. Ledley, M. Buas and T. J. Golab, Fundamentals of true-color image processing, 1990 Proceedings. 10th International Conference on Pattern Recognition, Atlantic City, NJ, USA, pp. 791-795 vol.1.1990.
168. Young-Chang Chang and J. F. Reid, "RGB calibration for color image analysis in machine vision," in *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 5, no. 10, pp. 1414-1422, Oct. 1996.
169. Webiste tabela de cores. Cores RGB. Disponível em: <https://tabeladecores.net/tabela-de-cores-html>. Acesso: 28/01/2020.
170. S. Gavrylenko, N. Khatsko. Fundamentals of computer systems architecture: the study guide. National Technical University. Kharkiv Polytechnic Institute. Kharkiv : NTU KhPI. 75 p. 2019.

171. Arthur Robert Weeks, Carlos E. Felix, and Harley R. Myler. Edge detection of color images using the HSL color space, Proc. SPIE 2424, Nonlinear Image Processing VI, 1995.
172. G. Saravanan, G. Yamuna and S. Nandhini. Real time implementation of RGB to HSV/HSI/HSL and its reverse color space models. 2016 International Conference on Communication and Signal Processing (ICCSP), Melmaruvathur, India, pp. 0462-0466. 2016.
173. Y. Ohta, T. Kanade, and T. Sakai. Color information for region segmentation. Computer Graphics and Image Processing, 13(3):222-241, July 1980.
174. S. Dutta and B. B. Chaudhuri, "A Color Edge Detection Algorithm in RGB Color Space," 2009 International Conference on Advances in Recent Technologies in Communication and Computing, Kottayam, India, pp. 337-340. 2009.
175. J. F. Canny. A computational approach to edge detection,. IEEE Trans.Pattern Anal. Machine Intell., vol. 8, no. 6, pp. 679.698, Nov. 1986.
176. S. K. Naik and C. A. Murthy, Standardization of Edge Magnitude in Color Images, IEEE Trans. Image processing, vol. 15, no. 9, Sept. 2006.
177. G. Healey. Color discrimination by computer. IEEE Trans. Syst. Man Cybern., vol. 19, no. 6, pp. 1613-1617, 1989.
178. I. Omer and M. Werman. Color lines: image specific color representation. Proceedings of the 2004 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 2004. CVPR 2004., Washington, DC, USA, 2004.
179. Webiste jornalismo UFV. Digital Pixel. Disponível em: <https://http://www.jornalismo.ufv.br/digital/pixel/>. Acesso: 28/01/2020.

180. Jorge GDL, Tártaro RDR, Facin ACC, Pereira RAT, Escanhoela CAF, Boin IFSF. Late Biliary Obstruction in Wistar Rats After Intermittent Hepatic Pedicle Clamping. *Transplant Proc.* 2014;46:1875-8.
181. Adobe Color. Palette Generator. Disponível em: <https://color.adobe.com>. Acesso: 26/01/2021.
182. Strasberg SM, Howard TK, Molmenti EP, Hertl M. Selecting the donor liver: risk factors for poor function after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 20:829-838, 1994.
183. Clavien PA, Harvey PRC, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts: Overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 53:957-978, 1992.
184. Lemasters JJ, Bunzendahl H, Thurman RG. Reperfusion injury to donor livers stored for transplantation. *Liv Trans & Surg* 1:124-138, 1995.
185. Chen Z, Yu X, Feng D. Telemedicine system over the internet. In *Pan-Sydney Workshop on Visualisation (VIP '00)*. 2000; 2(1):113-118.
186. Abu-Rustum NR, Angioli R, Bailey AE, et al IGCS Intraoperative Technology Taskforce. Update on near infrared imaging technology: beyond white light and the naked eye, indocyanine green and near infrared technology in the treatment of gynecologic cancers *International Journal of Gynecologic Cancer* 2020;30:670-683.
187. Aoki, T., Yasuda, D., Shimizu, Y. et al. Image-Guided Liver Mapping Using Fluorescence Navigation System with Indocyanine Green for Anatomical Hepatic Resection. *World J Surg* 32, 1763–1767. 2008.

188. Watanabe J, Ota M, Suwa Y, et al. Evaluation of the intestinal blood flow near the rectosigmoid junction using the indocyanine green fluorescence method in a colorectal cancer surgery. *Int J Colorectal Dis.* 2015;30:329–335.
189. Aoki T, Yasuda D, Shimizu Y, et al. Image-guided liver mapping using fluorescence navigation system with indocyanine green for anatomical hepatic resection. *World J Surg.* 2008;32: 1763–1767.
190. Sociedade internacional de cirurgia guiada por fluorescência – ISFGS. FGS Publications Library. Disponível em: <https://isfgs.org/physician-resources/fgs-publications-library>. Acesso: 21/08/2021.
191. Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA, Krupsky S, Orlock DA, Puliafito CA. Adverse Reactions due to Indocyanine Green, *Ophthalmology.* Vol 101, I3. 1994: 529-533.
192. Benya R, Quintana J, Brundage B, Catheterization and Cardiovascular Diagnosis. Vol 17, I4. 1989: 231-233.
193. Shafy SZ, Hakim M, Lynch S, Chen L, Tobias JD. Fluorescence Imaging Using Indocyanine Green Dye in the Pediatric Population. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics.* 10.5863/1551-6776-25.4.309, 25, 4, 309-313. 2020.
194. Arora E, Bhandarwar A, Wagh A, Gandhi S, Patel C, Gupta S, Talwar G, Agarwal J, Rathore J, Chatnalkar S. Role of indo-cyanine green (ICG) fluorescence in laparoscopic adrenalectomy: a retrospective review of 55 Cases. *Surgical Endoscopy,* 32, 11, 4649-4657. 2018.

195. Sakka SG. Assessment of liver perfusion and function by indocyanine green in the perioperative setting and in critically ill patients. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, 32, 5, 787-796, 2017.
196. Vos JJ, Wietasch JKG, Absalom AR, Hendriks HGD, Scheeren TWL, Green light for liver function monitoring using indocyanine green? An overview of current clinical applications. *Anaesthesia*. 69, 12, 1364-1376, 2014.
197. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Pätälä T, Spillmann T, Tuchin VV, Venermo M, Välisuo P. A Review of Indocyanine Green Fluorescent Imaging in Surgery. *International Journal of Biomedical Imaging*, vol. 2012, Article ID 940585, 26 pages, 2012.
198. Landsman ML, Kwant G, Mook GA, and Zijlstra WG. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *Journal of Applied Physiology* 1976 40:4, 575-583.
199. Yannuzzi LA, Slakter JS, Sorenson JA, Guyer DR, Orlock DA. Digital indocyanine green videoangiography and choroidal neovascularization. *Retina Philadelphia, Pa.* 1992 ;12(3):191-223.
200. Halle BM, Poulsen TD, Pedersen HP, Indocyanine green plasma disappearance rate as dynamic liver function test in critically ill patients, *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 10.1111/aas.12406, 58, 10, 1214-1219, 2014.
201. Gasperi AD, Mazza E. Clinical Use of Indocyanine Green (ICG) Kinetics in Liver Anaesthesia and ICU, *Practical Issues Updates in Anesthesia and Intensive Care*, 177-199, 2015.

202. Sakka, S.G. Assessment of liver perfusion and function by indocyanine green in the perioperative setting and in critically ill patients. *J Clin Monit Comput* 32, 787–796. 2018.
203. Ferrigno A, Di Pasqua LG, Palladini G, et al. Transient Expression of Reck Under Hepatic Ischemia/Reperfusion Conditions Is Associated with Mapk Signaling Pathways. *Biomolecules*. 2020;10(5):747.
204. Abdelsameea AA, Abbas NA, Abdel Raouf SM. Liraglutide attenuates partial warm ischemia-reperfusion injury in rat livers. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2017 Mar;390(3):311-319.
205. Seif, A.A., Abdelwahed, D.M. Vitamin D ameliorates hepatic ischemic/reperfusion injury in rats. *J Physiol Biochem* 70, 659–666 (2014).
206. Jorge GDL, Dos Reis Tártaro R, Fazzio Escanhoela CA, Boin IFSF. Later Evaluation of Ischemia and Reperfusion by the Pringle Maneuver in Wistar Rats, Demonstrating That Hepatic Lesions Can Be Reversible. *Transplant Proc*. 2017 May;49(4):898-901.
207. Tártaro RR, Jorge GL, Leonardi MI, Escanhoela CAF, Leonardi LS, Boin IFSF. No protective function found in Wistar rats submitted to long ischemia time and reperfusion after intermittent clamping of the total hepatic pedicle. *Transplant Proc*. 2015 May;47(4):1038-41.
208. Castro e Silva Jr O, Centurion S, Pacheco EG, Brisotti JL, Oliveira AF, Sasso KD. Basics aspects of the ischemia reperfusion injury and of the ischemic preconditioning. *Acta Cir Bras*. 2002;17(3):96-100.
209. Hand SC, Menze MA. Mitochondria in energy-limited states: mechanisms that blunt the signaling of cell death. *J Exp Biol*. 2008;211:1829–40.

210. Stokfisz K, Ledakowicz-Polak A, Zagorski M, Zielinska M. Ischaemic preconditioning - Current knowledge and potential future applications after 30 years of experience. *Adv Med Sci.* 2017 May 13;62(2):307-16.
211. Mitchell P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1966;41:445e502.
212. Rolo AP, Teodoro JS, Peralta C, Rosello-Catafau J, Palmeira CM. Prevention of I/R injury in fatty livers by ischemic preconditioning is associated with increased mitochondrial tolerance: the key role of ATPsynthase and mitochondrial permeability transition. *Transpl. Int.* 2009; 22:1081-90.
213. Dousse D, Vibert E, Nicolas Q, Terasawa M, Cano L, Allard MA, Salloum C, Ciaccio O, Pittau G, Sa Cunha A, Cherqui D, Adam R, Samuel D, Vignon-Clementel I, Golse N. Indocyanine Green Fluorescence Imaging to Predict Graft Survival After Orthotopic Liver Transplantation: A Pilot Study. *Liver Transpl.* 2020 Oct;26(10):1263-1274.
214. Templeton AW, Dwyer SJ 3rd, Johnson JA, Anderson WH, Hensley KS, Rosenthal SJ, Lee KR, Preston DF, Batnitzky S, Price HI. An on-line digital image management system. *Radiology.* 1984;152(2):321-5.
215. Arenson RL, Seshadri SB, Kundel HL, DeSimone D, Van der Voorde F, Geffer WB, Epstein DM, Miller WT, Aronchick JM, Simson MB, et al. Clinical evaluation of a medical image management system for chest images. *AJR Am J Roentgenol.* 1988; 150(1):55-9.
216. Mouggiakakou SG; Valavanis IK, Mouravliansky NA, Nikita KS, Nikita, KS. DIAGNOSIS: A Telematics-Enabled System for Medical Image Archiving.

Management, and Diagnosis Assistance. Instrumentation and Measurement, IEEE Transactions on. 2009; 58(7):2113-2120.

217. Craig J, Patterson V. Introduction to the practice of telemedicine. J. Telemed. Telecare. 2005; 1(11):3-9.

218. Maani R, Camorlinga S, Eskicioglu R. A Remote Real-time PACS-based Platform for Medical Imaging Telemedicine. Proceedings of SPIE 7264. 2009; 7264(1):1-12.

1.1. INPI – Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (Brasil). Marpa Consultoria & Assessoria Empresarial Ltda. Telepresence Robot. BR nº BR 10 2013 030976-1, 02 dez. 2013, 28 jan. 2014. 2014. Disponível em: revistas.inpi.gov.br/pdf/PATENTES2247.pdf. Acesso: 18/03/2020.

1.2. IFI Claims Patent Services (Usa). Intouch Technologies, Inc. Telepresence Robot With a Camera Boom. USA nº US20100100240 A1, 28 out. 2008, 22 abr. 2010. 2010. Disponível em: <http://patents.com/us-8996165.html>. Acesso: 15/03/2020.

1.3. IFI Claims Patent Services (Usa). National Institutes of Health (nih), U.S. Dept. of Enhanced Diagnostics for a Telepresence Robot. USA nº US20140139616 A1, 16 dez. 2013, 22 maio 2014. 2014. Disponível em: <https://www.google.com/patents/US20140139616>. Acesso: 12/03/2020.

1.4. IFI Claims Patent Services (Usa). Intouch Technologies; Irobot Corporation. Interfacing with a mobile telepresence robot. USA nº US20160046021 A1, 27 out. 2015, 18 fev. 2016. 2016. Disponível em: <https://www.google.ch/patents/US20160046021>. Acesso: 22/03/2020.

8. APÊNDICES

Apêndice 1 - Descrição da patente de invenção

Equipamento De Comunicação Cirúrgico-Portátil

Automático Com O Robô R1T1

Campo Técnico

O seguinte relatório descritivo para invenção se refere ao desenvolvimento de um equipamento hospitalar portátil para comunicação automática durante o procedimento cirúrgico com o robô R1T1.

O objetivo principal deste equipamento é conectar a equipe de extração de órgão com o robô R1T1 no processo pré-operatório do transplante de órgão, se concentrando principalmente no momento de retirada e coleta do órgão possibilitando assim sua análise e avaliação remota, de forma a possibilitar a atuação proativa frente ao planejamento e execução do procedimento.

Estado da Arte

O desenvolvimento verificado nas tecnologias de comunicação está ganhando escopo rapidamente na área médica, seja fornecendo uma infraestrutura de apoio ou os mais diversos equipamentos e aplicativos, estas possibilitam ao médico um desempenho de padrão mundial e uma melhora significativa na qualidade de atendimento percebida pelo paciente.

O documento BR 10 2013 030976-1 se refere a um robô de telepresença (R1T1) ou presença virtual móvel, voltado para interações sociais e capaz de se adaptar às necessidades e ao ambiente humano, sendo criado para proporcionar a sensação de estar presente fisicamente em um lugar remoto; podendo ser utilizado para inúmeras situações, se comportando de modo autônomo ou controlado remotamente pela internet, celular, tablete, controle remoto ou por comando de voz (1.1).

Os robôs de telepresença são uma realidade em diversos setores assim como assistentes em salas de cirurgia. Um exemplo disto pode ser visto no documento US 20100100240 que descreve um robô controlado remotamente com uma cabeça que suporta um monitor e é acoplado a uma plataforma móvel. O robô móvel inclui também uma câmara auxiliar acoplada à plataforma móvel por uma lança. O robô móvel é controlado por uma estação de controle remoto. A título de exemplo, o robô pode ser movido remotamente em torno de uma sala de operação. A câmara auxiliar prolonga-se a partir da lança, de modo a proporcionar uma vista relativamente próxima de um paciente ou outro item na sala. Um assistente na sala de cirurgia pode mover a lança e a câmera. A lança pode ser conectada a uma cabeça de robô que pode ser movida remotamente pela estação de controle remoto (1.2).

Robôs de telepresença também são utilizados para diagnósticos aprimorados, como no caso do documento US 20140139616, onde um dispositivo de telepresença pode verificar autonomamente os pacientes. O dispositivo de telepresença pode determinar a frequência de verificação com base no fato de o doente ter ou não um fator de risco. O dispositivo de telepresença pode incluir um

sensor de imagem, uma câmera térmica, um sensor de profundidade, um ou mais sistemas para interagir com pacientes ou semelhantes. O dispositivo de telepresença pode ser configurado para avaliar a condição do doente utilizando um ou mais sensores. O dispositivo de telepresença pode medir características fisiológicas usando ampliação de vídeo euleriana, pode detectar palidez, nível de fluido ou cor de fluido, pode detectar assimetria térmica, pode determinar um estado psicológico a partir da posição ou movimento do corpo, ou semelhante. O dispositivo de telepresença pode determinar se o paciente está experimentando uma condição potencialmente nociva, como *sepsis* ou acidente vascular cerebral, e pode disparar um alarme, se assim for. Para superar a fadiga do alarme, o dispositivo de telepresença pode irritar um prestador de cuidados até que o prestador de cuidados responda a um alarme (1.3).

O documento US 2016046021 revela um robô de telepresença que pode incluir um sistema de acionamento, um sistema de controle, um sistema de imagem e um módulo de mapeamento. O módulo de mapeamento pode acessar um mapa de vista de plano de uma área e marcadores associados à área. Em várias formas de realização, cada marcador pode incluir marcadores de coordenadas e marcadores de informação, que podem incluir um marcador de anotação. Um sistema de identificação de marcadores pode identificar marcadores dentro de um intervalo predeterminado da posição atual e o sistema de controle pode executar uma ação com base em um marcador identificado cuja informação do marcador compreende um modificador de ação de robô de telepresença. O robô de telepresença pode rodar uma porção superior independente de uma porção inferior. Um terminal remoto pode permitir que um operador controle o robô de telepresença usando qualquer combinação de

métodos de controle, incluindo selecionando um destino em uma alimentação de vídeo ao vivo, selecionando um destino em um mapa de vista em planta ou usando um joystick ou outro dispositivo periférico (1.4).

Sumário

Assim, devido às considerações pertinentes ao estado da arte anteriormente apresentado, é um dos objetivos da presente invenção o desenvolvimento de um equipamento de comunicação cirúrgico portátil automático, capaz de conectar qualquer sala de cirurgia, através de áudio e vídeo em tempo real a qualquer hora e em qualquer lugar que possua sinal de celular com o robô hospitalar R1T1, apenas com um único clique no botão de energia.

Descrição

A caracterização da presente solicitação de invenção é feita por meio de imagens representativa do equipamento de comunicação cirúrgico portátil, de tal modo, que o equipamento possa ser integralmente reproduzido por técnica adequada, permitindo plena caracterização da funcionalidade do objeto pleiteado.

A partir das imagens elaboradas que expressam a melhor forma ou forma preferencial de se realizar o produto ora idealizado, se fundamenta a parte descritiva do relatório, através de uma numeração detalhada e consecutiva, onde está esclarece aspectos que possam ficar subentendidos pela representação adotada, de modo a determinar claramente a proteção ora pleiteada.

Estas imagens são meramente ilustrativas, podendo apresentar variações, desde que não fujam do inicialmente pleiteado, elas estão representadas nas figuras de 1 a 10.

Figura 1: Perspectiva explodida do jogo de lentes da câmera utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)

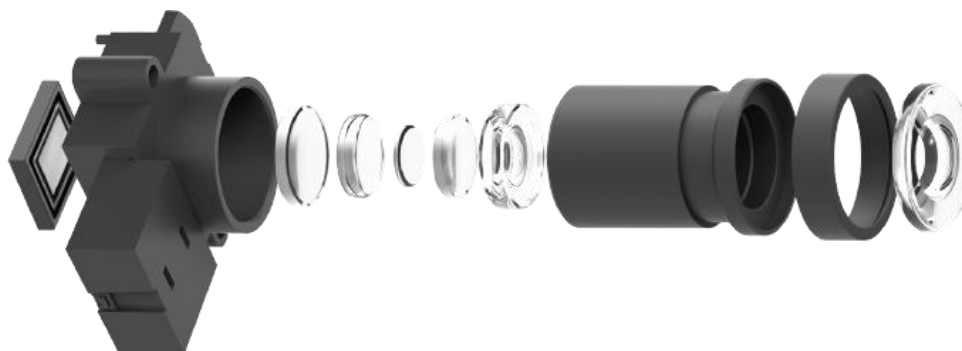


Figura 2: PCB (*printed circuit board*), lentes e conjunto de LEDs (luz emitida por diodo) utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)

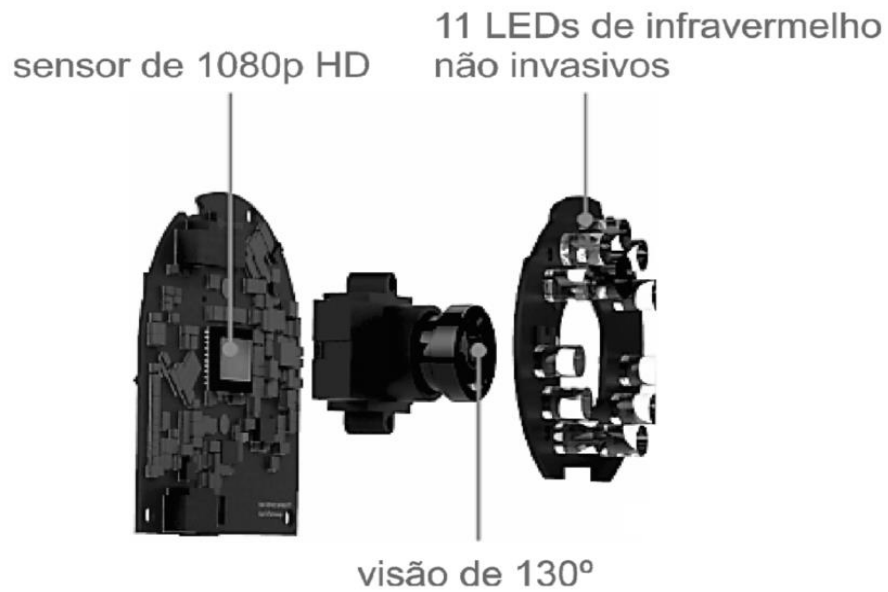


Figura 3: Diagrama de blocos do PCB (*printed circuit board*) da câmera utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)

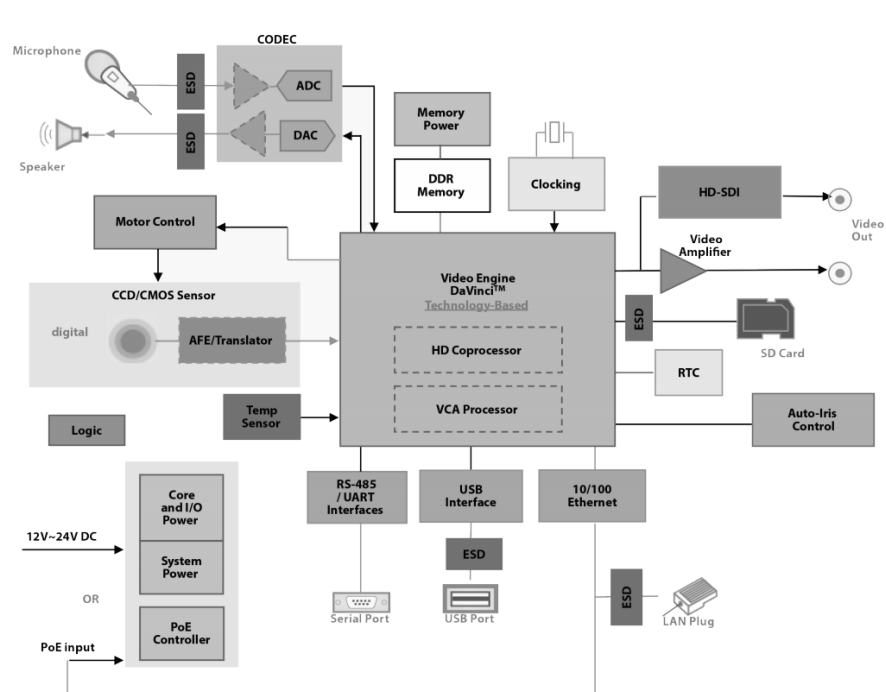


Figura 4: Processador utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)



Figura 5: Sensor de imagens utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)



Figura 6: Medidas e visão geral do revestimento do APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)

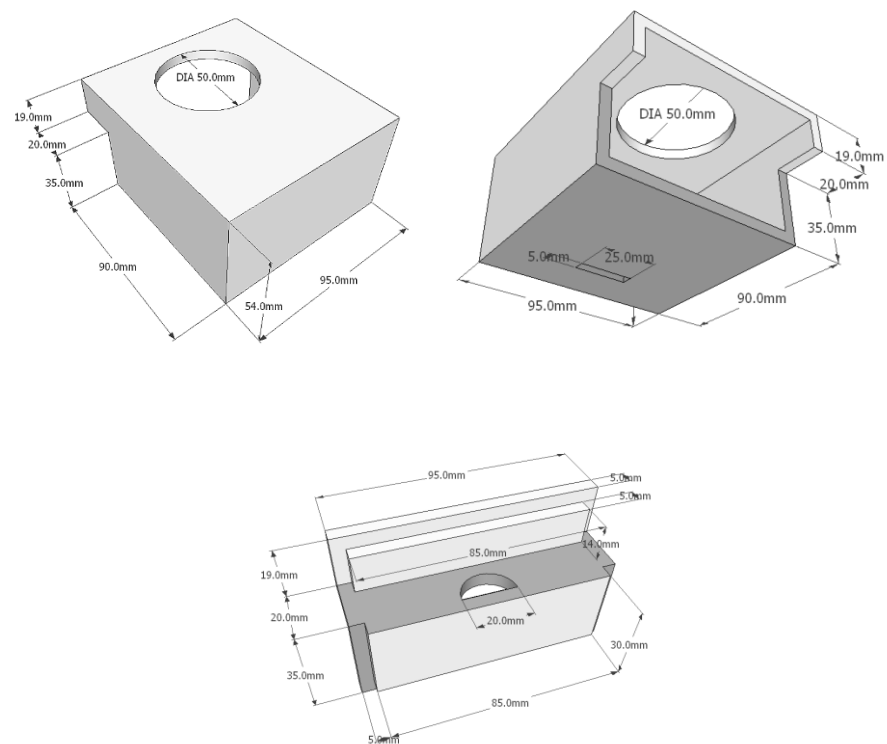


Figura 7: Revestimento antibactericida e aspecto final do APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)

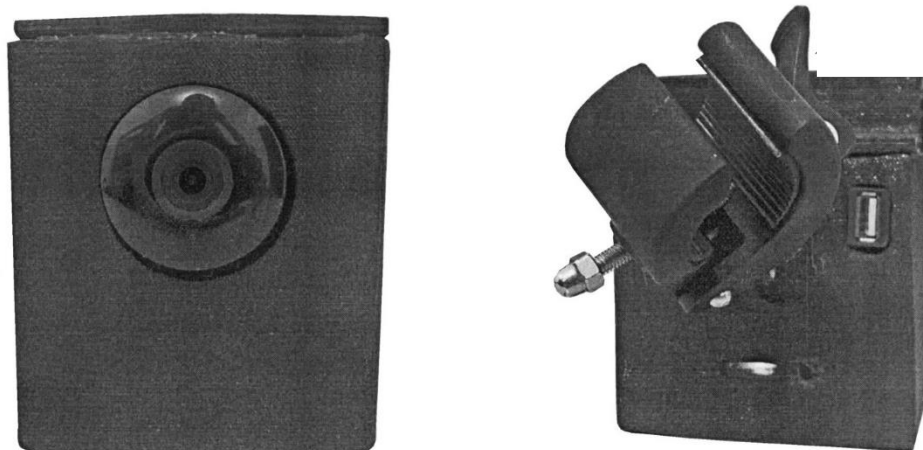


Figura 8: Bateria de polímero de lítio plana de 3.7V e 3000mAh utilizada no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)



Figura 9: Módulo de carregamento com circuito de proteção utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)

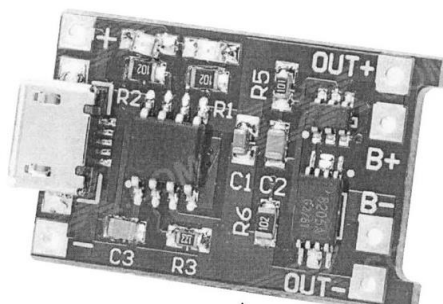
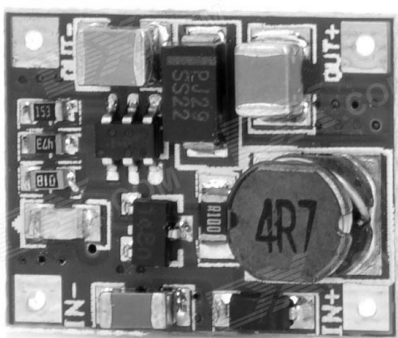


Figura 10: Módulo conversor de energia DC-DC (corrente contínua) utilizado no APSCERR/R1T1 (equipamento cirúrgico portátil de comunicação automática com o robô R1T1)



O equipamento de comunicação cirúrgico portátil automático conecta qualquer sala de cirurgia, através de áudio e vídeo em tempo real a qualquer hora e em qualquer lugar que possua sinal de celular com o robô hospitalar R1T1 apenas com um único clique no botão de energia.

Uma qualidade de imagem de alta definição é crucial para o correto diagnóstico médico. Para fornecer uma imagem clara, brilhante e verdadeira durante as diversas variações de luminosidade a câmera de comunicação cirúrgica portátil automática utiliza a nova geração de chipset (figura 4), sensor 28nm CMOS de baixo consumo de energia, CPU integrado ARM Cortex-A9 e tecnologia de codificação h.264 HP 5.1, possuindo também seis camadas de lente ótica F/2.0 (figura 1) de

grande abertura, permitindo que textos e imagens que não podem ser vistos claramente pelos olhos humanos, possam ser claramente reconhecidos pela câmara.

A câmara de comunicação cirúrgica portátil automática usa todas as lentes de vidro (figura 1) com abertura de F/2.0 para produzir imagens brilhantes e cristalinas. Com resolução *Full HD*, sensor 1080p (figura 2), ela ainda oferece excelente qualidade de imagem mesmo com sua função de zoom ativada para a visualização de pequenos detalhes, bem como emprega um conjunto de 11 LEDs de infravermelho não invasivo (figura 2), possuindo capacidade de visualização de substâncias que funcionam como marcadores/indicadores na medicina.

A fim de eficientemente transmitir vídeos em *Full HD* 1080p através da Internet, a câmara é capaz de utilizar a tecnologia de transmissão de baixa taxa de bits *SmartAVC* do chipset (figura 4), para alcançar uma economia de 40% no tamanho do vídeo, preservando o fluxo e excelente qualidade de imagem quando comparado com os sistemas convencionais. Combinado com o sensor de imagem (figura 5), a câmara oferece uma qualidade de vídeo superior, com alta sensibilidade, baixo ruído e baixo consumo de energia.

O revestimento da câmara é formado por uma peça paralelepípedica com uma abertura frontal (figura 6) que é fechada por uma tampa (figura 6), de modo a conformar a caixa de contenção (figura 7) da câmara.

Normalmente, a câmara é presa ao foco cirúrgico através de sua garra de pressão (figura 7) com tamanho variável. Devido à forte iluminação necessária ao procedimento cirúrgico, o posicionamento da câmara tem sido um grande desafio ao setor médico. Com o uso da tecnologia inteligente HDR a câmara possui a capacidade

de analisar as diferentes condições de luz e dinamicamente calibrar e equilibrar suas configurações de forma a se adaptar ao ambiente para obter imagens mais brilhantes e claras, com detalhes e cores verdadeiras mesmo em condições de iluminação adversas.

Quando o campo de visão da câmera é pequeno, parte do quadro cirúrgico pode ser deixado descoberto. Equipada com uma lente angular extragrande de 130° (figura 2), pode-se estender a área de cobertura para permitir uma visão clara de objetos e maximizar o campo de visão.

Normalmente, lentes arredondadas com visão angular supergrande criam bordas entortadas. Para resolver este problema, a câmera utiliza tecnologia correção de distorção de lente - LDC para restaurar e endireitar as bordas e fazer com que as imagens permaneçam em sua forma natural.

Basta clicar duas vezes em sua imagem remota para ativar a função de 4x zoom digital e focar em detalhes de áreas específicas através da tela sensível ao toque do robô R1T1.

A câmera também possui sensor infravermelho "não invasivo" (figura 2) de 940nm que funciona mesmo em ambientes de fraca iluminação, sem perturbar o procedimento cirúrgico. Ela também possui um sistema inteligente para garantir imagens claras e de alta qualidade, dia e noite, sendo que seu sistema de infravermelho é acionado automaticamente através de seu software no caso de fraca incidência de luz.

Com um simples toque no botão de energia, a câmera inicia sua transmissão de áudio e vídeo criptografados automaticamente em uma conversa de duas vias com o robô R1T1, através do sistema de vídeo e do sistema de 16 bits de entrada e saída de voz da câmera (114-117).

Seu microfone de alta qualidade de 16KHz, com sistema omnidirecional de 360° antirruído hipersensíveis garante que a voz transmitida seja alta e limpa, sendo equivalente a qualidade superior de *VoIP*. Já seu alto-falante de 48KHz (qualidade de CD), executada automaticamente a mensagem enviada através do sistema do robô R1T1 sem a necessidade de qualquer tipo de interação com a câmera.

Com tecnologia de detecção de movimento interno de alta precisão, câmara envia notificações ao sistema do robô R1T1 detalhando quando, onde, e que foi detectado instantaneamente.

Com memória interna de 64 GB, ela armazena vídeo e áudio de forma indexada, permitindo a visualização em tempo real de imagens passadas.

Ainda, possui função de gravação somente quando a mudança de imagem é detectada de forma a alcançar melhor otimização de capacidade de armazenamento.

O suporte do giroscópio, integrado ao robô R1T1, é capaz de seguir a orientação da imagem transmitida pela câmera remota, tornando mais fácil a visualização específica da imagem a ser observada. Ou seja, por simplesmente girar o sistema de locomoção do robô R1T1 para à esquerda ou à direita, a imagem vista

acompanhará este movimento permitindo assim uma melhor experiência de visualização.

A qualidade da imagem transmitida pode ser escolhida de forma manual, onde os usuários podem definir diferentes resoluções e *bitrate* para gerenciar o seu próprio uso de largura de banda, ou automática através de sua tecnologia de transmissão adaptativa que automaticamente ajusta a qualidade ideal da imagem enviada com base nas condições de capacidade e desempenho da rede disponível.

São três opções de qualidade, cada uma com requisitos de largura de banda diferente: modo auto (adaptável ao ambiente de rede), modo de definição padrão (640x360 pixels) e modo de alta definição (1280x720 e 1920x1080 pixels).

A câmera também pode reconhecer um gesto de mão especial e em seguida ativar a função de gravação. Desta forma, procedimentos especiais podem ser armazenados de forma segura com detalhes de alta qualidade e acessados remotamente. O gesto com a mão pode ser feito na frente da câmera dentro de dois metros, um vídeo será gravado até que o gesto seja feito novamente. A gravação é armazenada na memória interna da câmera e sincronizada automaticamente e em tempo real com o sistema do robô R1T1.

Esta é uma forma simples e conveniente para interagir com a câmera, evitando seu contato físico com agentes patológicos.

Usando as características da imagem da figura humana, juntamente com o processamento de imagem gráfica, a câmera pode detectar e localizar figuras humanoides baseadas em modelos de aparência humana de enormes conjuntos de

dados de amostra de imagens em movimento e extrair as características humanoides. Ou seja, as características humanoides são extraídas e comparadas dinamicamente em tempo real com os modelos offline.

Desta forma, é possível realizar a contagem de pessoas presentes na sala de cirurgia.

O design da câmara foi modelado em software gráficos e impresso em impressora com ABS industrial. O resultado é um projeto profissional altamente adaptado à indústria médica. Sua forma suave, com cantos levemente abaulados é ideal para o controle de infecção hospitalar, uma vez que sua ausência de quinas evita o acúmulo de agentes nocivos e facilita sua higienização. Ainda, a câmera possui um revestimento especial antibactericida com base em nanotecnologia, aplicado através do produto Sempre Seco.

Três baterias planas (figura 8) de polímero de lítio de 3.7V e 3000mAh cada foram ligadas em paralelo para fornecer um total de 3.7V e 9000mAh de capacidade. O que corresponde ao total de cerca de 8 horas de utilização ininterruptas. Em seguida, um módulo de carregamento de baterias (figura 9) de uma célula de polímero de lítio, com circuito de proteção incluído e com saída USB foi ligado diretamente as mesmas.

Um conversor de energia DC-DC (figura 10) com uma tensão de entrada de 3.7V e tensão de saída de 5V, ligado diretamente ao módulo de baterias, foi utilizado para regular a tensão necessária ao circuito elétrico da câmera.

Por fim, os componentes já descritos anteriormente foram montados em circuito elétrico seguindo o diagrama apresentado na figura 3, ligados ao conversor de energia e encaixados devidamente em seu revestimento externo.

Reivindicações

Equipamento de comunicação cirúrgico-portátil automático com o robô R1T1, caracterizado por conectar qualquer sala de cirurgia, através de áudio e vídeo em tempo real a qualquer hora e em qualquer lugar que possua sinal de celular com o robô hospitalar R1T1 apenas com um único clique no botão de energia.

Equipamento de comunicação cirúrgico-portátil, de acordo com a reivindicação 1 e caracterizado por empregar uma câmera de comunicação cirúrgica portátil automática (figura 1), dotada de alta resolução (*Full HD*), sensor 1080p (figura 2), equipada com uma lente angular extragrande de 130° (figura 2), além de contar com um conjunto de 11 LEDs de infravermelho não invasivo (figura 2).

Equipamento de comunicação cirúrgico-portátil, de acordo com a reivindicação 2 e caracterizado por compreender um processador (figura 4) que atuando junto com o sensor de imagens (figura 5) permite transmitir as imagens obtidas pela câmera para a Internet.

Equipamento de comunicação cirúrgico-portátil, de acordo com a reivindicação 3 e caracterizado pela câmera apresentar um revestimento formado por uma peça paralelepípedica com uma abertura frontal (figura 6) que é fechada por uma tampa (figura 6), de modo a conformar a caixa de contenção (figura 7) da câmera, que

é presa ao foco cirúrgico através de sua garra de pressão (figura 7) com tamanho variável.

Equipamento de comunicação cirúrgico-portátil, de acordo com a reivindicação 4 e caracterizado por contar com baterias planas (figura 8) ligadas em paralelo, contando com módulo de carregamento de baterias (figura 9) de uma célula de polímero de lítio, com circuito de proteção incluído e com saída USB, além de apresentar um conversor de energia *DC-DC* (figura 10), ligado diretamente ao módulo de baterias.

Resumo da Patente do Equipamento de Comunicação Cirúrgico-Portátil Automático com o Robô R1T1

O seguinte resumo para invenção descreve o equipamento hospitalar portátil, cujo objetivo é conectar a equipe de extração de órgão com o robô R1T1 no processo pré-operatório do transplante de órgão, se concentrando principalmente no momento de retirada e coleta do órgão possibilitando assim sua análise e avaliação remota, de forma a possibilitar a atuação proativa frente ao planejamento e execução do procedimento, contando para isto com uma câmera de comunicação cirúrgica portátil automática (figura 1), um processador (figura 4) que atuando junto com o sensor de imagens (figura 5) permite transmitir as imagens obtidas pela câmera para a internet.

**Apêndice 2 - Capa do livro publicado: EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO
CIRÚRGICO PORTÁTIL AUTOMÁTICO COM O ROBÔ R1T1 –
APSCERR/R1T1**



9. ANEXOS

Anexo 1 - Revista da propriedade industrial Nº 2434 de 29/08/2017 p477

Patentes – RPI 2434 de 29 de Agosto de 2017

477/1026

	(71) THE BOEING COMPANY (US)
(21) BR 10 2017 006351-8	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 28/03/2017 (71) THE BOEING COMPANY (US)
(21) BR 10 2017 006433-6	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 29/03/2017 (71) MITSUBISHI JIDOSHA KOGYO KABUSHIKI KAISHA (JP)
(21) BR 10 2017 006499-9	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 29/03/2017 (71) HAMBÄ FILLTEC GMBH & CO. KG (DE)
(21) BR 10 2017 006894-3	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 04/04/2017 (71) IND. DE IMPLEMENT. AGRÍCOLAS VENCE TUDO IMP. E EXP. LTDA. (BR/RS)
(21) BR 10 2017 008246-6	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 20/04/2017 (71) SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL (BR/CE)
(21) BR 10 2017 008426-4	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 24/04/2017 (71) BIOMAC MED ODONTOMEDICA LTDA - EPP (BR/MG)
(21) BR 10 2017 008430-2	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 24/04/2017 (71) BIOMAC MED ODONTOMEDICA LTDA - EPP (BR/MG)
(21) BR 10 2017 008807-3	Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado (22) 27/04/2017 (71) ANTONIO HENRIQUE DIANIN (BR/PR)

Anexo 2 - Parecer consubstanciado do CEUA, nº 4303-1



CEUA/UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada A utilização do robô R1T1 para detecção do metabolismo de indocianina no órgão hepático de ratos Wistar, registrada com o nº **4303-1**, sob a responsabilidade de Prof. Dra. Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin e Antonio Henrique Dianin, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em reunião de **05 de setembro de 2016**.

Finalidade:	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	01/08/2016-31/04/2017
Vigência da autorização para manipulação animal:	05/09/2016-31/04/2017
Espécie / linhagem/ raça:	Rato Heterogênico / HanUnib: WH (Wistar)
No. de animais:	40
Peso / Idade:	08 semanas / 300g
Sexo:	machos
Origem:	CEMIB/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CiBio**.

Campinas, 05 de setembro de 2016.

Prof. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud
Presidente

Fátima Alonso
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

Anexo 3 - Parecer consubstanciado do CEP, nº 47966515.0.0000.5404

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLANTE DE ÓRGÃO HEPÁTICO

Pesquisador: Antonio Henrique Dianin

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 47966515.0.0000.5404

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: CNPQ
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.247.219

Apresentação do Projeto:

O objetivo da pesquisa é compreender o papel crescente da tecnologia robótica, mais especificamente no campo de robôs de tele-presença, com a utilização do robô R1T1 no processo pré-operatório do transplante de órgão hepático, se concentrando principalmente no setor de retirada e coleta do órgão. O desenvolvimento verificado nas tecnologias robóticas está ganhando escopo rapidamente na área médica, seja fornecendo uma infraestrutura de apoio ou os mais diversos equipamentos e aplicativos, estas possibilitam ao médico um desempenho de padrão mundial e uma melhora significativa na qualidade de atendimento percebida pelo paciente. A pesquisa será desenvolvida utilizando o método de estudo de casos. Serão realizados, no hospital da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, na área de Gastrocirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, vinte estudos de casos. Os casos serão analisados individualmente e depois comparados, procurando identificar semelhanças e diferenças entre os processos desenvolvidos envolvendo o robô R1T1. Em seguida, serão identificadas e analisadas as melhorias apresentadas quando comparadas com o processo tradicional pré-operatório do transplante de órgão hepático. Este trabalho está inserido em um projeto de pesquisa em desenvolvimento no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia (PGCIR) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da UNICAMP intitulado "A Utilização do Robô R1T1 como

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.247.219

Auxiliar no Processo Pré-Operatório do Transplante de Órgão Hepático".

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Como objetivo geral desta pesquisa pode-se apontar principalmente a caracterização do nível de utilidade do robô de telepresença R1T1 no processo pré-operatório do transplante de órgão hepático.

Objetivo Secundário: Por sua vez, como objetivos mais específicos deste trabalho busca-se determinar parâmetros qualitativos e quantitativos sobre a efetividade da implementação desta nova tecnologia. Como exemplos destes parâmetros podemos citar:

- Tempo total de tomada de decisão;
- Efetividade destas decisões;
- Agilidade do processo;
- Confiança na utilização do R1T1;
- Satisfação das necessidades apresentadas;
- Acuracidade e precisão da realização do trabalho;
- Qualidade do serviço prestado;
- Tranquilidade da equipe em realizar estes procedimentos;
- Satisfação dos envolvidos na utilização desta nova tecnologia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo informações do pesquisador:

Riscos: Não há riscos mensuráveis relativos a participação de qualquer pessoa envolvida nesta pesquisa. Os procedimentos pré-estabelecidos não serão alterados em sua essência e a conduta médica permanecerá a mesma, sendo que esta pesquisa apenas adicionará uma nova opção para melhorar a qualidade geral do processo porém sem alterá-lo diretamente. A tempo necessário para uma boa coleta de dados referente ao questionário aplicado nesta pesquisa pode ser estimado em cerca de 10 minutos, sendo esta característica apresentada como o único desconforto proporcionado aos participantes desta pesquisa. Os riscos associados a mesma dizem respeito apenas à sua correta implementação e realização, estendendo-se principalmente a fatores tecnológicos pertinentes a implementação de tecnologia de ponta e altamente inovativa, porém não se limitando a tal escopo. Assim exemplifica-se abaixo os principais riscos relacionados à implementação dos procedimentos previstos nesta pesquisa: • Dificuldades quanto a implementação de tecnologia de ponta; • Inovação dos procedimentos de uma operação delicada; • Problemas de conexão com a internet; • Fatores humanos relacionados com a operacionalização da

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.247.219

tecnologia; • Mudança de cultura ao aceitar a inovação de um procedimento previamente estruturado por um longo período de tempo. Cientes dos riscos descritos, busca-se formas de amenizar e antecipar tais probabilidades com a implementação de atividades educadoras, palestras, treinamentos sobre a nova tecnologia e sua utilização, bem como a realização de testes preliminares e ensaios antes da efetiva implementação da mesma. Busca-se também a utilização de um link dedicado de internet, com controle de banda apropriado, afim de garantir a qualidade do sinal e evitar a concorrência de tráfego e com os outros usuários conectados à rede interna do hospital.

Benefícios: Não há benefícios diretos relativos a participação das pessoas envolvidas nesta pesquisa. A participação da mesma se dará por sua livre e espontânea vontade, não havendo também qualquer tipo de valor econômico, a receber ou a pagar, pela participação nesta pesquisa, sendo que todas as informações fornecidas serão providas por livre consentimento. Como parte dos benefícios indiretos podemos citar o fato de o robô R1T1 vir sendo utilizado com sucesso nas mais variadas atividades relacionadas com o setor da saúde, dentre os principais benefícios de sua implementação podemos citar a modernização dos processos, a agilidade e praticidade de sua utilização, a diminuição do tempo total das cirurgias, a maior precisão e credibilidade durante a tomada de decisões, a melhora na qualidade dos serviços prestados e a maior confiabilidade e ausência de falhas em seus sistemas quando comparados a sistemas tradicionais de computação. Por sua vez, esta pesquisa possibilitará através do robô R1T1 a comunicação em tempo real entre todos os envolvidos no processo de transplante de órgãos, principalmente entre a equipe de extração e recepção do órgão hepático, que agora poderá acompanhar a cirurgia remotamente e participar ativamente durante a mesma. Destaca-se também a possibilidade de conexão conjunta das demais entidades interessadas, como por exemplo a central de transplantes, os residentes que gostariam de acompanhar a cirurgia e até mesmo os alunos da universidade, que se assim autorizado, poderiam fazer uso das gravações para fins didáticos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de doutorado da FCM-UNICAMP, que utilizará o método de estudo de casos (n=14) para compreender o papel crescente da tecnologia robótica, por meio de um questionário on-line, mais especificamente no campo de robôs de telepresença, com a utilização do robô R1T1 no processo pré operatório do transplante de órgão hepático, se concentrando principalmente no setor de retirada e coleta do órgão do HC-UNICAMP. A pesquisa é pertinente, porém, aparentemente, não demonstra que está embasada na literatura, não há nenhum artigo

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.247.219

citado de forma adequada no projeto de pesquisa, só tem as referências no final. Também, não há riscos previsíveis.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos foram apresentados (TCLE, Projeto de Pesquisa, Folha de rosto e Projeto de Pesquisa Detalhado). A folha de rosto e o Projeto de Pesquisa Detalhado estão de acordo com as regras do CEP/CONEP, porém, o projeto de pesquisa gerado pela Plataforma Brasil e o TCLE. O questionário está disponível on-line.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

**COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS**



Continuação do Parecer: 1.247.219

projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Folha de Rosto	Folha de Rosto Assinada 2015-07-17.pdf	30/07/2015 03:47:58		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.pdf	18/09/2015 15:08:12	Antonio Henrique Dianin	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Antonio_Henrique_Dianin.pdf	18/09/2015 15:08:56	Antonio Henrique Dianin	Aceito
Outros	Carta_Resposta3.pdf	18/09/2015 16:10:29	Antonio Henrique Dianin	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_548059.pdf	18/09/2015 16:11:23		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 28 de Setembro de 2015

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.247.219

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

Anexo 4 - Declaração de publicação do artigo 'A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO ASCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO'



Ponta Grossa, 07 de Janeiro de 2020.

DECLARAÇÃO DE PUBLICAÇÃO

Declaro que o artigo intitulado " A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO ASCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO" de autoria de "Antonio Henrique Dianin, Rodolfo dos Reis Tártaro, Gracinda de Lourdes Jorge, Aurea Maria Oliveira da Silva, Elaine Cristina de Ataíde, Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin", foi aprovado e publicado no livro eletrônico " Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina 3", ISBN 978-85-7247-882-3 e DOI 10.22533/at.ed.82319231212.

Agradeço a escolha pela Atena Editora como meio de transmitir ao público científico e acadêmico o trabalho e parabenizo os autores pela publicação.

Reitero protestos de mais elevada estima e consideração.

Prof.ª Dr.ª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Chefe
ATENA EDITORA
PREFIXO EDITORIAL ISBN 93243
PREFIXO DOI 10.22533

Anexo 5 - Declaração de publicação do livro 'EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO CIRÚRGICO PORTÁTIL AUTOMÁTICO COM O ROBÔ R1T1 – APSCERR/R1T1'



Ponta Grossa, 25 de novembro de 2019.

DECLARAÇÃO DE PUBLICAÇÃO

Declaro que o e-book intitulado "Equipamento de Comunicação Cirúrgico Portátil Automático com o Robô R1T1 – APSCERR" de autoria de "Antonio Henrique Dianin, Rodolfo dos Reis Tártaro, Gracinda de Lourdes Jorge, Aurea Maria Oliveira da Silva, Elaine Cristina de Ataíde e Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin", foi aprovado e publicado no livro eletrônico ISBN 978-85-7247-797-0 e DOI 10.22533/at.ed.970192111.

Agradeço a escolha pela Atena Editora como meio de transmitir ao público científico e acadêmico o trabalho e parabenizo os autores pela publicação.

Reitero protestos de mais elevada estima e consideração.

Prof.ª Dr.ª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Chefe
ATENA EDITORA
PREFIXO EDITORIAL ISBN 93243
PREFIXO DOI 10.22533

Anexo 6 - Declaração de publicação do artigo 'RESULTS OF GREEN INDOCYANINE IN THE USE OF THE R1T1 ROBOT AS AID IN THE PRE-OPERATIVE PROCESS OF HEPATIC ORGAN TRANSPLANT: EXPERIMENT IN WISTAR RATS'



Congratulations

Congratulations on your accepted article!

Dear Author,

We recognize you have a choice of where to submit your research and we thank you for choosing to publish with *Transplantation Proceedings*.

As an expert in the topic, you are best to explain why your article, **RESULTS OF GREEN INDOCYANINE IN THE USE OF THE R1T1 ROBOT AS AID IN THE PRE-OPERATIVE PROCESS OF HEPATIC ORGAN TRANSPLATE: EXPERIMENT IN WISTAR RATS**, is so important or novel.

We look forward to receiving future manuscripts from you!

Sincerely,

Researcher Engagement Team

Elsevier supports responsible sharing:

Responsible sharing in line with copyright enables publishers to sustain high quality journals and the services they provide to the research community. [Find out how you can share your accepted manuscript in Elsevier journals.](#)

- Find useful tools and resources on [Author Services](#).
- For assistance, please visit our [Customer Support](#) site, where you can search for solutions on a range of topics and find answers to frequently asked questions.



This message has been sent to antoniohdianin@hotmail.com from Elsevier Communications on behalf of Elsevier Journals. If you no longer wish to receive messages of this nature from us in the future, please [click here](#). Visit the [Elsevier Preference Center](#) to manage more of your communication preferences with us. Copyright © 2020 Elsevier B.V.. All rights reserved. | [Elsevier Privacy Policy](#)
Elsevier B.V., Registered Office: Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands. Reg. No. 33158992 – Netherlands. VAT No. NL 005033019B01.

Anexo 7 - Declaração de apresentação do trabalho 'O POTENCIAL DO EQUIPAMENTO DE COMUNICAÇÃO PORTÁTIL CIRÚRGICO AUTOMÁTICO COM ROBÔ R1T1 – ASCPERR: UMA REVISÃO INTEGRATIVA DA VIABILIDADE'



Anexo 8 - Declaração de apresentação do trabalho 'A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLANTE DE ÓRGÃO HEPÁTICO'



**XVI CONGRESSO
BRASILEIRO
DE TRANSPLANTES 2019** **CAMPINAS**
Royal Palm Hall
16 - 19 de Outubro

XVIII Congresso Luso Brasileiro de Transplantes
XV Encontro de Enfermagem em Transplantes
Fórum de Histocompatibilidade da ABH
ABTO2019 | Inovação e Integração



Associação Brasileira de Transplante de Órgãos

Certificado

CERTIFICAMOS que o trabalho

A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLANTE DE ÓRGÃO HEPÁTICO

foi apresentado no **XVI Congresso Brasileiro de Transplantes**, realizado no Royal Palm Hall, Campinas - SP, de 17 a 19 de outubro de 2019.

Autores: Antonio Henrique Dianin, Rodolfo dos Reis Tártaro, Gracinda de Lourdes Jorge, Larissa Bastos Eloy da Costa, Ilka de Fátima Santana

Instituição: UNICAMP - São Paulo - Brasil

Instituição: Project Company - Paraná - Brasil

Campinas, 19 de outubro de 2019



Paulo Manuel Pêgo Fernandes
Presidente da ABTO



Marilda Mazzali
Presidente do Congresso



Ilka de Fátima S. F. Boin
Presidente da Comissão Científica