

















# Temperatura de Pâncreas Durante o Transporte para Transplante: Estudo Pré-Clínico

Sibele Maria Schuantes Paim<sup>1\*</sup> , Victor Arayama Cruz<sup>1</sup> , Karoline Sabrina de Carvalho Gomes<sup>1</sup> , Julia Karini da Silva Araujo<sup>1</sup> , Graciana Maria de Moraes Coutinho<sup>1</sup> , Eliana Cavalari Teraoka<sup>1</sup> , Renata Fabiana Leite<sup>1</sup> , Vanessa Ayres Gonçalves<sup>1</sup> , Adriana Aparecida Carbonel<sup>2</sup> , Manuel de Jesus Simões<sup>2</sup> , José Homero Soares<sup>3</sup> , Murched Omar Taha<sup>1</sup> , André Ibrahim David<sup>3</sup> , Janine Schirmer<sup>1</sup> , Bartira de Aguiar Roza<sup>1</sup> 

1. Universidade Federal de São Paulo  – Escola Paulista de Enfermagem – São Paulo (SP) – Brasil.

2. Universidade de São Paulo  – Faculdade de Medicina – Hospital das Clínicas – São Paulo (SP) Brasil.

3. Universidade Federal de São Paulo  – Escola Paulista de Medicina – São Paulo (SP) – Brasil

\*Autora correspondente: [sibele.schuantes@unifesp.br](mailto:sibele.schuantes@unifesp.br)

Editora de Seção: Ilka de Fátima Santana F. Boin 

Recebido: Ago. 20, 2025 | Aprovado: Jan. 14, 2026

## RESUMO

**Objetivos:** Comparar a viabilidade de pâncreas suínos transportados a frio estático em dois modelos de transporte. **Métodos:** Estudo pré-clínico prospectivo com delineamento caso-controle adaptado, realizado em órgãos de suínos Landrace. A coleta de dados foi realizada a partir de três variáveis: temperatura, avaliação macroscópica e histologia. As variáveis foram comparadas utilizando dois modelos de acondicionamento: o caso, Embalagem Autônoma e Inteligente para Cadeia Fria de Sistemas de Saúde (EMAIS-SR), e o controle, embalagem térmica convencional amplamente utilizada e preenchida com gelo. Para temperatura, foram utilizados três termômetros: dois para temperatura interna e um para temperatura de superfície. A avaliação macroscópica analisou coloração, integridade tecidual, consistência e presença de lesões, edema ou hematomas no órgão. Para histologia, as amostras foram fixadas e coradas por hematoxilina-eosina, que possibilita a visualização da morfologia tecidual em microscopia óptica seguida de análise imuno-histoquímica. **Resultados:** Foram realizadas 10 cirurgias experimentais; seis pâncreas foram acondicionados a frio estático e transportados em embalagem com refrigeração ativa, enquanto quatro foram transportados em embalagem convencional com gelo. Dentre os casos, somente um pâncreas apresentou temperatura de saída mais alta (12,1 °C) que a preconizada de até 8 °C. Contudo, frente à avaliação macroscópica, o órgão com temperatura mais alta após o transporte apresentou melhor avaliação, enquanto os demais mantiveram avaliação macroscópica qualitativa. Na análise histológica, em média, os pâncreas transportados na embalagem de refrigeração ativa demonstraram melhor qualidade tecidual por apresentarem estruturas celulares mais preservadas. **Conclusão:** O estudo demonstrou, por meio de modelo experimental pré-clínico, que, apesar de terem sido mantidos em padrão de temperatura recomendado, os órgãos preservados na solução tecnológica EMAIS-SR, que não utiliza gelo, demonstraram-se mais bem preservados. Ademais, o único caso em que houve temperatura superior, ou seja, em que o órgão aqueceu após acondicionamento, ocorreu na embalagem tradicional com gelo. A pesquisa instiga a realização de novos e mais robustos estudos acerca de decisões clínicas sobre limites térmicos seguros e boas práticas para o transporte de pâncreas destinados ao transplante.

**Descritores:** Pâncreas; Transplante de Pâncreas; Transplante de Órgãos; Logística; Isquemia Fria.

## *Pancreatic Temperature During Transport for Transplantation: A Preclinical Study*

### ABSTRACT

**Objectives:** To compare the viability of porcine pancreases transported under static cold conditions using two transport models. **Methods:** A prospective preclinical case-control study with an adapted design, conducted on Landrace pig organs. Data were collected from three variables: temperature, macroscopic assessment, and histology. The variables were compared using two packaging models: the experimental model, Autonomous and Intelligent Packaging for Cold Chain in Healthcare Systems (Embalagem Autônoma e Inteligente para Cadeia Fria de Sistemas de Saúde [EMAIS-SR]), and the control, a conventional thermal container widely used and filled with ice. Three thermometers were used for temperature measurements: two for internal temperature and one for surface temperature. The macroscopic evaluation analyzed color, tissue integrity, consistency, and the presence of lesions, edema, or hematomas in the organ. For histology, the samples were fixed and stained with hematoxylin-eosin, which allows visualization of

tissue morphology under light microscopy, followed by immunohistochemical analysis. **Results:** Ten experimental surgeries were performed: six pancreases were stored under static cold conditions and transported in the active-cooling container, while four were transported in the conventional ice-filled container. Among all cases, only one pancreas had an exit temperature higher (12.1 °C) than the recommended maximum of 8 °C. However, in the macroscopic evaluation, the organ with the higher exit temperature received a better evaluation, while the others maintained a qualitative macroscopic evaluation. In histological analysis, on average, pancreases transported in the active-cooling container demonstrated better tissue quality by presenting more preserved cellular structures. **Conclusion:** The preclinical experimental model demonstrated that, although the organ was kept within the recommended temperature range, organs maintained in the technological solution EMAIS-SR, which does not use ice, were better preserved. Furthermore, the only case in which temperature exceeded the recommended limit, that is, in which the organ warmed after packaging, occurred in the traditional ice-filled container. The research encourages the development of new and more robust studies on clinical decisions regarding safe thermal limits and best practices for transporting pancreases intended for transplantation.

**Descriptors:** Pancreas; Pancreas Transplant; Organ Transplant; Logistics; Cold Ischemia.

## INTRODUÇÃO

O pâncreas desempenha papéis endócrinos e exócrinos vitais; sua falência, especialmente no diabetes mellitus tipo 1, de difícil controle, principal indicação clínica e, mais raramente, em condições como pancreatite crônica, pode exigir o transplante como terapia definitiva<sup>1,2</sup>. Contudo, o órgão é particularmente sensível à isquemia fria: desvios de temperatura ou prolongamento do tempo de conservação provocam lesão endotelial, edema, trombose microvascular e pancreatite do enxerto, reduzindo a sobrevida do paciente e do órgão. Além disso, o aumento do tempo de isquemia fria está associado à maior incidência de pancreatite do enxerto, trombose vascular, atraso na função do enxerto e necessidade de intervenções cirúrgicas<sup>3</sup>, tornando o controle térmico durante o transporte um dos principais desafios clínico-cirúrgicos no transplante pancreático. As diretrizes atuais recomendam mantê-lo entre 2 °C e 8 °C e limitar o tempo de isquemia fria a 12 horas; exceder esses limites aumenta exponencialmente o risco de perda do enxerto<sup>3</sup>.

No cenário clínico, o pâncreas ainda é transportado em caixas térmicas convencionais com gelo, como os demais órgãos. Esses recipientes oferecem isolamento passivo, mas geram gradientes térmicos imprevisíveis: regiões próximas ao gelo podem atingir temperaturas abaixo de 0 °C, causando lesão por congelamento, enquanto outras ultrapassam 8 °C devido ao derretimento do gelo ou à abertura frequente da tampa. Além disso, a técnica carece de registro contínuo de temperatura, impedindo a rastreabilidade completa do processo – a etapa de logística, portanto, permanece um ponto crítico e, muitas vezes, subnotificado na cadeia de transplante.

Para resolver essa lacuna, um convênio acadêmico-industrial desenvolveu a embalagem ativa Embalagem Autônoma e Inteligente para Cadeia Fria de Sistemas de Saúde (EMAIS-SR) durante 5 anos, integrando estudos de termodinâmica, mecânica, eletrônica e ergonomia. O dispositivo combina controle eletrônico de temperatura, almofadas de ar para absorção de impacto, materiais de alta eficiência isolante e tecnologia digital que registra e transmite dados ambientais em tempo real<sup>4</sup>.

Para validar a eficiência da EMAIS-SR para o transporte seguro de órgãos para transplante, realizou-se pesquisa pré-clínica com órgãos de suínos e, de maneira inédita, mediu-se a temperatura interna do pâncreas com sondas, simultaneamente à temperatura de superfície, permitindo identificar possíveis gradientes internos não detectáveis por métodos externos. Essas leituras foram correlacionadas com parâmetros de viabilidade macroscópica e com alterações histológicas padronizadas, oferecendo uma visão detalhada do impacto do transporte tanto em caixa térmica com gelo quanto na EMAIS-SR.

Portanto, o objetivo do estudo é comparar a viabilidade de pâncreas suínos transportados a frio estático em dois modelos de transporte.

## MÉTODOS

### Tipo de estudo

Estudo pré-clínico prospectivo com delineamento caso-controle adaptado, realizado com pâncreas de suínos Landrace. A intervenção (caso) consistiu no uso da embalagem térmica ativa EMAIS-SR, comparada a um *cooler* convencional com gelo (controle). O desfecho primário foi a viabilidade do órgão, avaliada por (i) temperatura interna e de superfície, (ii) aparência macroscópica e (iii) histologia. Esse delineamento foi escolhido porque as caixas térmicas com gelo, amplamente empregadas, já apresentam resultados satisfatórios e servem como referência. Um estudo-piloto prévio ajustou os procedimentos<sup>5</sup>. O artigo foca especificamente nos resultados de temperatura e viabilidade do pâncreas.

### Local do estudo

O estudo foi desenvolvido na Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental.

## Animais, anestesia e monitoramento intraoperatório

Foram incluídas 10 porcas Landrace (~ 25 kg) provenientes de granja vinculada à UNIFESP. Os animais receberam cuidados adequados antes do transporte e foram acomodados em caixas de madeira ventiladas, sob supervisão veterinária contínua. A anestesia consistiu em cetamina 15 mg/kg e midazolam 0,2 mg/kg por via intramuscular, seguidos de indução intravenosa com propofol 7 mg/kg. Após intubação, mantiveram-se sob isoflurano 1,5-2% por 4 horas. A analgesia foi fornecida com fentanil 2,5 mg/kg, e administraram-se doses adicionais de propofol conforme a necessidade.

## Captação do pâncreas

Após incisão toracoabdominal e canulação da aorta, realizou-se o pinçamento da aorta descendente, e a cavidade abdominal foi preenchida com gelo triturado (solução salina congelada) para induzir resfriamento rápido. Simultaneamente, infundiram-se 2 litros de Custodiol® pela canulação. Os órgãos foram removidos nessa ordem: coração, fígado, pâncreas e rins. Em seguida, cada órgão foi levado à mesa auxiliar, e o pâncreas não foi perfundido, somente preparado para o condicionamento<sup>5</sup>.

## Transporte e condicionamento

Cada pâncreas foi acondicionado por um método estéril de três camadas: (i) bolsa interna estéril contendo o órgão imerso em solução Custodiol®; (ii) segunda bolsa estéril preenchida com solução salina fria; e (iii) bolsa externa estéril. Os conjuntos foram alocados em duas modalidades de transporte em cada experimento: uma caixa térmica convencional de plástico com gelo (controle) ou o dispositivo EMAIS-SR (caso). A EMAIS-SR foi testada em dois níveis de maturidade tecnológica [*technology readiness level* (TRL)] diferentes.

Nos experimentos, foi utilizado o protótipo da embalagem ativa, denominado EMAIS-SR (TRL6 e TRL7). Ambos compartilham o mesmo princípio de funcionamento (refrigeração ativa com controle eletrônico de temperatura na faixa indicada para órgãos sólidos), porém o modelo TRL7 corresponde a uma versão mais avançada, com melhorias de engenharia (*set-points* de temperatura e calibração) que resultam em maior estabilidade da temperatura interna. Esses parâmetros foram ajustados após os primeiros testes. Conceitualmente, ambos compõem o mesmo grupo de Embalagem Experimental EMAIS-SR, dado que foram ajustes e aperfeiçoamentos no protótipo e não a modificação ou troca do dispositivo.

Após condicionados, foram transportados de automóvel por 30 minutos em trajeto urbano simulado e, em seguida, mantidos 90 minutos em repouso no laboratório, perfazendo 120 minutos mínimos de exposição contínua dentro do sistema de condicionamento<sup>8</sup>.

## Coleta dos dados

O método de coleta dos dados foi descrito em estudo anterior<sup>5</sup>. Brevemente, os dados foram coletados em duas fases: primeiro, assim que o órgão foi retirado da cavidade e durante o preparo para condicionamento (H0) e, depois, após transcorrido o tempo de permanência de cada órgão na embalagem (H2). Portanto, o tempo de permanência do órgão nas embalagens corresponde à diferença entre H2 e H0.

Com relação à temperatura, ela foi mensurada por dois métodos diferentes. No primeiro, foram utilizados dois termômetros do tipo sonda (termômetro culinário), inseridos em ângulo de 45° e mantidos até a estabilização dos indicadores, conforme orientação do fabricante. Em seguida, foi aferida a temperatura de superfície com um termômetro infravermelho, posicionado a 2 cm do órgão e mantido por 2 a 3 segundos, também conforme instruções do fabricante. Os locais de inserção e aferição de temperatura foram padronizados: os termômetros internos foram inseridos na cabeça e no corpo do pâncreas e a aferição de superfície foi realizada no centro do órgão – regiões onde a variação térmica poderia ser maior.

A viabilidade do órgão foi mensurada por meio de análise macroscópica, isto é, da aparência do pâncreas nos dois momentos de coleta dos dados, e de análise histológica, que visou visualizar a arquitetura tecidual do órgão.

Para a macroscopia, desenvolveu-se um instrumento de coleta de dados a partir de estudo prévio de avaliação morfológica<sup>6</sup>. O instrumento contempla: coloração (branco leitoso, amarelo, marrom-claro, rosa ou rosa-acinzentado); qualidade do órgão, composta por lesão tissular (ausente = 0; contusão = 1; laceração = 2; outro = 3); calcificação (ausente = 0; parcial = 1; total = 2); consistência (rigidez ausente = 0; parcial = 1; total = 2); e presença de hematoma ou edema (sim = 1; não = 0). Quanto mais próximo de 0 o escore obtido na avaliação, melhor a condição do órgão; para coloração, considerou-se ideal a manutenção do tom original.

Para a histologia, amostras padronizadas foram coletadas da cauda do pâncreas antes do condicionamento (H0) e novamente após o transporte (H2). Os fragmentos foram fixados em paraformaldeído 4% (tampão fosfato) por 24 horas, desidratados em séries crescentes de etanol, diafanizados em xilol e incluídos em parafina a 60 °C. Cortes de 4 µm foram obtidos em micrótomo tipo Minot (espaçamento de 50 µm) e corados com hematoxilina-eosina (HE) para análise histomorfométrica.

Os cortes corados por HE foram examinados em microscópio óptico. A aquisição das imagens foi realizada com câmera AxioCam ICc 5 de alta resolução, acoplada ao microscópio de luz AxioLab A1 (ZEISS®), equipado com objetiva A-Plan 40× e ampliação de captura de 0,63×. As imagens foram obtidas utilizando o *software* AxioVision 40x64, versão 4.9.1.0 (ZEISS®), garantindo adequada

documentação das características histológicas avaliadas. No total, foram analisadas 20 imagens representativas, distribuídas entre os grupos controle e EMAIS-SR.

A avaliação morfológica inicial dos cortes histológicos corados por HE foi utilizada como critério para a seleção de lâminas representativas destinadas à análise imuno-histoquímica. Para a análise imuno-histoquímica da expressão das proteínas BCL-2 e p53 no pâncreas, foram utilizados cortes histológicos de 4 µm de espessura, obtidos a partir de fragmentos pancreáticos previamente fixados em formaldeído a 10% tamponado e posteriormente incluídos em parafina. Os cortes histológicos foram montados em lâminas silanizadas, mantidos à temperatura ambiente para secagem e, em seguida, acondicionados em estufa a 60 °C por 1 hora, com a finalidade de promover adequada aderência tecidual.

A desparafinização dos cortes foi realizada em três banhos consecutivos de xilol, com duração de 10 minutos cada, seguida de reidratação em etanol em concentrações decrescentes de 100%, 95% e 70%, permanecendo 5 minutos em cada solução, com lavagem final em água destilada. A recuperação antigênica foi conduzida em tampão citrato 10 mM, pH 6,0, por aquecimento em panela de vapor por 20 minutos. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o bloqueio da peroxidase endógena foi realizado por incubação com solução de peróxido de hidrogênio a 3% em metanol, na proporção 1:9, durante 10 minutos, seguida de lavagem em tampão fosfato-salina 0,1 M, pH 7,4.

O bloqueio de ligações inespecíficas foi realizado com albumina sérica bovina a 3% por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a incubação com os anticorpos primários BCL-2 (clone sc-7846, Santa Cruz Biotechnology®, policlonal, diluição 1:100) e p53 (clone sc-126, Santa Cruz Biotechnology®, policlonal, diluição 1:100).

A incubação com os anticorpos primários foi realizada por 16 horas a 4 °C. Após esse período, as lâminas foram lavadas em PBS e incubadas com anticorpo secundário biotilado por 30 minutos, seguida da aplicação do complexo estreptavidina-peroxidase por mais 30 minutos, ambos diluídos em tampão TRIS, pH 7,6. A revelação da reação foi realizada com solução de DAB, preparada imediatamente antes do uso, até a visualização da coloração marrom indicativa de imunopositividade.

Os cortes foram contracorados com hematoxilina de Mayer por 20 segundos, lavados em água corrente, desidratados em séries crescentes de etanol, diafanizados em xilol e montados em meio sintético Entellan®. Como controle positivo, foram utilizadas lâminas de tecido de baço, enquanto os controles negativos foram obtidos pela substituição do anticorpo primário por PBS.

As análises microscópicas foram realizadas em microscópio de luz AxioLab A1 (Carl Zeiss®), utilizando objetiva de 40×. Para a avaliação da intensidade de marcação, foram selecionados campos representativos por lâmina. A quantificação da coloração marrom indicativa de imunopositividade foi realizada no *software ImageJ*®, com valores expressos em unidades arbitrárias de densidade óptica (0-255).

## Análise dos dados

Os dados de temperatura foram analisados por medidas de tendência central, considerando média e desvio padrão.

Na análise macroscópica, os escores quantitativos compuseram a média relacionada à variável “qualidade do órgão”. Valores médios estáveis indicaram preservação da qualidade visual, enquanto aumentos ou reduções refletiram, respectivamente, melhora ou piora do aspecto. Para o pâncreas, escores mais baixos corresponderam à melhor qualidade. A comparação entre os valores obtidos antes (H0) e após o transporte (H2) indicou se a aparência do órgão havia melhorado ou se deteriorado, incluindo o padrão da tonalidade referida.

A análise histológica baseou-se em cortes corados por HE que possibilitam a visualização da morfologia tecidual em microscopia óptica. Estruturas basofílicas (por exemplo, núcleos contendo DNA) apresentaram-se em tons de azul a roxo, enquanto componentes acidofílicos (citoplasma) mostraram coloração rosa a vermelha, permitindo a identificação de alterações estruturais no tecido pancreático. Os resultados imuno-histoquímicos foram expressos como média ± desvio padrão, considerando-se a marcação citoplasmática como padrão de positividade para BCL-2 e a marcação nuclear como padrão de positividade para p53. Após a quantificação, foram selecionadas fotomicrografias correspondentes ao padrão de imunomarcação observado.

## Aspectos éticos

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIFESP (n.º 4197081221). Todos os procedimentos foram planejados para minimizar o sofrimento animal.

## RESULTADOS

Foram realizadas 10 cirurgias experimentais com suínos. Os pâncreas foram acondicionados e transportados em seis experimentos na EMAIS-SR e em quatro na embalagem controle (caixa térmica de 16 litros preenchida com gelo). A média do tempo de isquemia fria dos órgãos transportados na embalagem controle foi de 3 horas e 34 minutos (± 14 minutos), enquanto a média do tempo de permanência dos órgãos na embalagem controle foi de 2 horas e 41 minutos (± 12 minutos). Para a EMAIS-SR, a média de isquemia fria foi de 3 horas e 28 minutos (± inferior a 1 minuto), e a média do tempo de permanência dos pâncreas nas embalagens foi de 2 horas e 35 minutos (± inferior a 1 minuto).

Embora tenham sido observadas pequenas variações no tempo de permanência dos órgãos nas embalagens (diferença entre H2 e H0), tanto no grupo controle quanto no grupo EMAIS-SR, os tempos médios foram semelhantes, com variação máxima de 12 minutos. Essas diferenças refletem ajustes operacionais inerentes ao modelo experimental e não configuram discrepâncias sistemáticas entre os grupos.

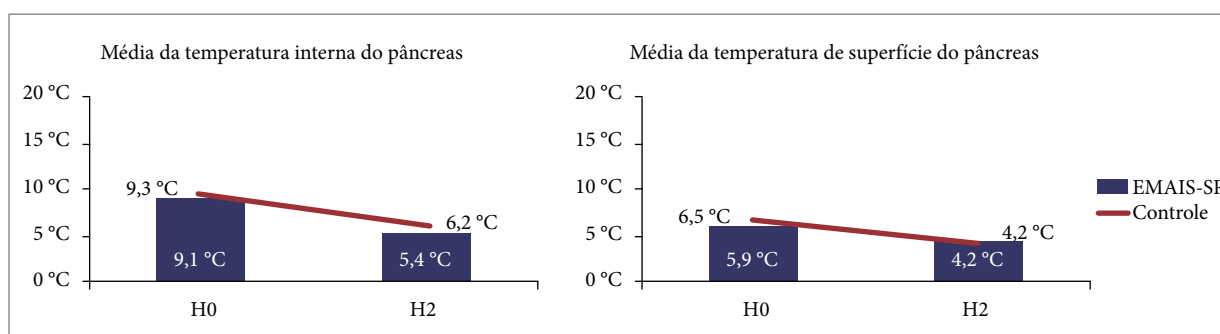
Quanto à temperatura, a Tabela 1 apresenta os valores médios e o desvio padrão das temperaturas internas e de superfície dos órgãos avaliados no experimento. Ressalta-se que, dentre os casos, somente um pâncreas, transportado na embalagem controle, apresentou temperatura de saída mais alta (12,1 °C), mensurada no termômetro interno, enquanto o termômetro de superfície apresentou 6,1 °C.

**Tabela 1.** Valores de temperatura em °C (H0 e H2) dos órgãos transportados na embalagem controle e na EMAIS-SR (média ± DP).

Embalagem	Temperatura interna		Temperatura de superfície	
	H0	H2	H0	H2
Controle (n = 4)	9,3 ± 2,1	6,2 ± 4,1	6,5 ± 2,9	4,2 ± 1,3
EMAIS-SR (n = 6)	9,1 ± 2,4	5,4 ± 1,4	5,9 ± 2,6	4,2 ± 1,3

Fonte: Elaborada pelos autores.

A Fig. 1 apresenta o padrão de comportamento médio das temperaturas. Nota-se que o valor de temperatura interna obtido é a média dos valores mensurados nos dois termômetros.



Fonte: Elaborada pelos autores.

**Figura 1.** Representação gráfica das médias de temperatura (°C) obtidas no experimento.

Com relação à avaliação macroscópica, os órgãos transportados na embalagem controle apresentaram média de 9,9 cm de comprimento (± 2,8 cm) e 5,4 cm de largura (± 1,9 cm). Já os órgãos transportados na EMAIS-SR apresentaram em média 18,2 cm de comprimento (± 1,7 cm) e 7,4 cm de largura (± 1,8 cm).

Quanto à viabilidade do órgão, a Tabela 2 apresenta os resultados a partir da análise macroscópica. Nota-se que o único órgão avaliado com melhora do aspecto geral foi o que apresentou temperatura de saída de 12,1 °C, superior ao valor preconizado.

**Tabela 2.** Avaliação macroscópica de pâncreas a partir de formulário desenvolvido.

Embalagem	Qualidade do órgão*		Coloração		Avaliação
	Pré-transporte	Pós-transporte	Pré-transporte	Pós-transporte	
Controle (n = 4)	0,4	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Melhora
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração
EMAIS-SR (n = 6)	0,0	0,0	Amarelo	Amarelo	Sem alteração
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração
	0,0	0,0	Branco leitoso	Branco leitoso	Sem alteração

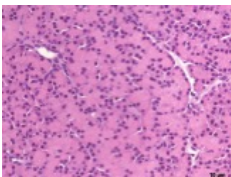
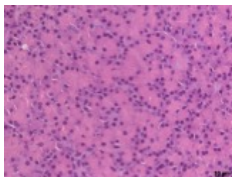
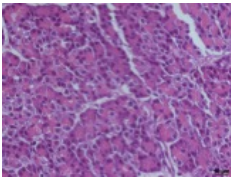
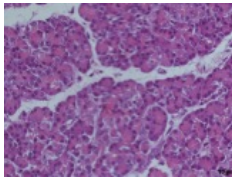
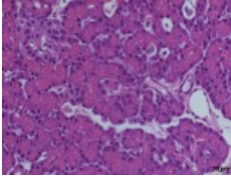
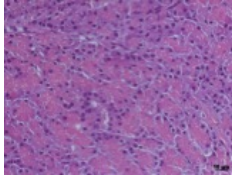
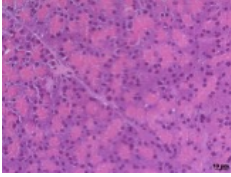
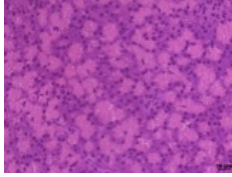
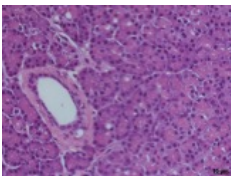
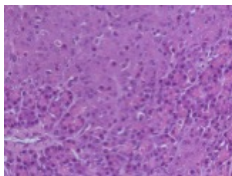
Fonte: Elaborada pelos autores. \*Média dos valores obtidos nas avaliações das variáveis lesão tissular, calcificação, consistência e presença de hematoma ou edema.

Com relação à histologia, no grupo controle antes do transporte foram observadas estruturas exócrinas (responsáveis pela produção de enzimas digestivas) e uma pequena porção endócrina (ilhotas pancreáticas). As estruturas pancreáticas exócrinas formam estruturas tubuloacinares, organizadas em lóbulos. Os ácinos são constituídos por células poliédricas, com núcleos arredondados e claros, localizados na porção basal; a porção apical apresenta granulações eosinófilas. Ao redor dos ácinos e dos ductos pancreáticos, notou-se a presença de tecido conjuntivo frouxo. Entre os lóbulos, notou-se a presença de ductos revestidos por epitélio simples pavimentoso ou cúbico baixo. A porção exócrina é constituída pelas ilhotas pancreáticas, dispersas no parênquima exócrino. As ilhotas contêm células endócrinas com citoplasma claro e núcleos bem definidos.

A arquitetura histológica básica dos cortes de pâncreas dos animais pertencentes ao grupo da EMAIS-SR apresenta também a mesma estrutura do grupo controle. No entanto, nos cortes dos pâncreas do grupo embalagem controle, não se observou a delimitação precisa dos ácinos, com algumas áreas mal preservadas, o que também foi observado na análise do pâncreas que obteve temperatura de saída de 12,1 °C. Embora esse órgão tenha obtido avaliação de melhoria do aspecto macroscópico, essa avaliação não se manteve ao observar as estruturas celulares. No grupo Embalagem Experimental (EMAIS-SR) a maioria dos núcleos está bem preservada.

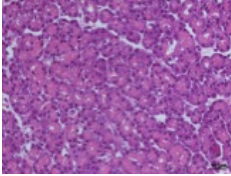
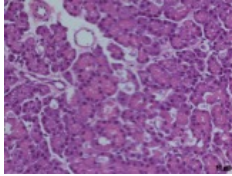
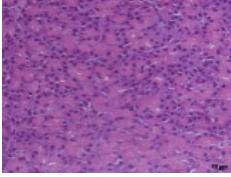
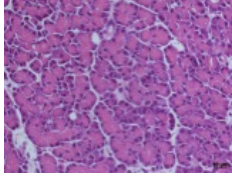
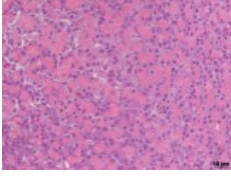
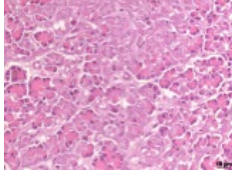
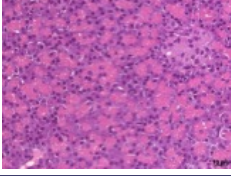
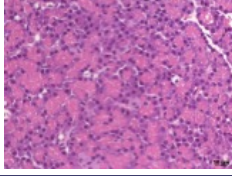
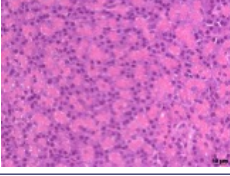
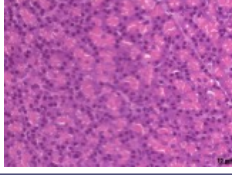
Com relação à porção endócrina, as ilhotas pancreáticas apresentaram boa preservação morfológica em todos os grupos avaliados. Observou-se a manutenção de contornos bem definidos e organização celular típica, com células endócrinas apresentando citoplasma claro e núcleos bem delimitados. Não foram identificadas alterações estruturais, desorganização celular ou sinais evidentes de degeneração das ilhotas pancreáticas, indicando preservação da arquitetura endócrina do pâncreas nas condições experimentais avaliadas. A Tabela 3 apresenta as fotomicrografias representativas de cortes histológicos do pâncreas que ilustram essa descrição.

**Tabela 3.** Fotomicrografias representativas de cortes histológicos do pâncreas corados por HE antes e após o transporte, nos grupos controle e EMAIS-SR.

Embalagem controle			Análise
Antes do transporte	Depois do transporte		
			Alteração da coalescência dos ácinos pancreáticos e núcleos picnóticos (escuros).
			Presença de alterações antes mesmo do transporte. Após o transporte, manteve-se.
			Alteração da coalescência dos ácinos pancreáticos e núcleos picnóticos (escuros).
			Alteração da coalescência dos ácinos pancreáticos e núcleos picnóticos (escuros).
EMAIS-SR			Análise
Antes do transporte	Depois do transporte		
			Presença de alterações em apenas uma região; no entanto, os núcleos mantiveram-se íntegros.

Continua...

Tabela 3. Continuação.

EMAIS-SR		Análise
Antes do transporte	Depois do transporte	
		Não foram observadas alterações.
		Não foram observadas alterações.
		Presença de alterações tanto antes quanto depois do transporte, preservação dos núcleos (possível problema com a fixação).
		Não foram observadas alterações.
		Não foram observadas alterações.

Fonte: Elaborada pelos autores. Aumento de 40x. Barra de escala = 10 µm.

A análise imuno-histoquímica dos fragmentos pancreáticos corados para BCL-2 revelou marcação positiva em todos os grupos avaliados, com predomínio de expressão citoplasmática nas células do parênquima pancreático. A imunopositividade apresentou distribuição homogênea tanto nas amostras analisadas antes do transporte quanto naquelas submetidas ao transporte em embalagem controle e EMAIS-SR.

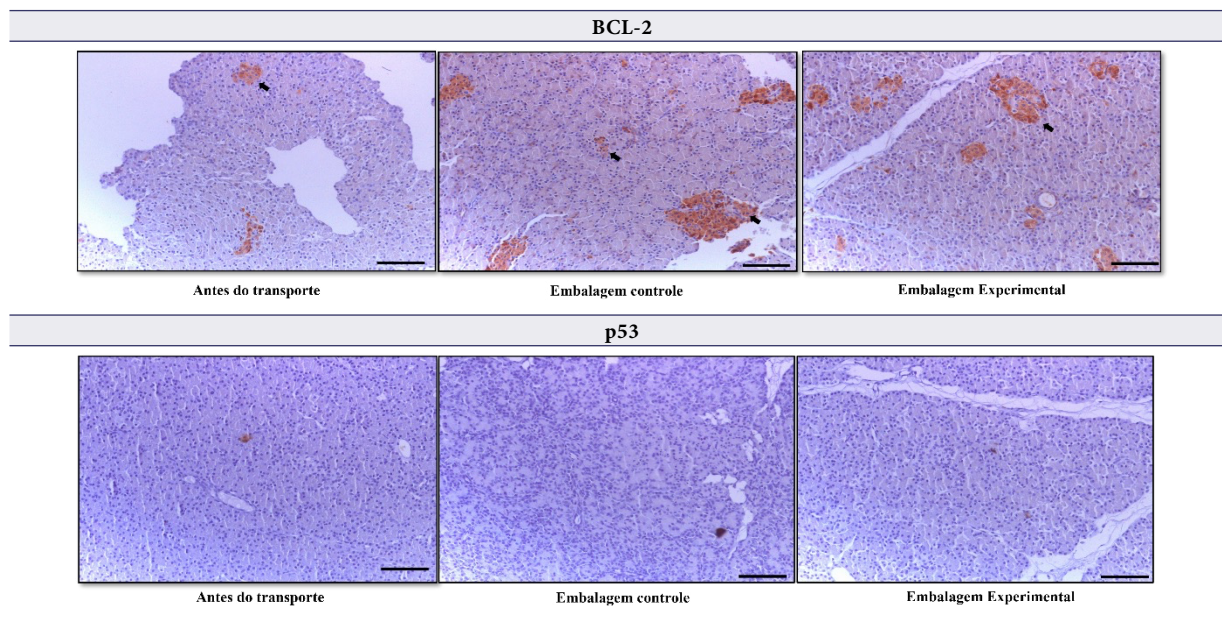
Embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, verificou-se discreta tendência à maior intensidade de marcação no grupo EMAIS-SR em comparação ao grupo embalagem controle, sugerindo adequada preservação da integridade celular e dos mecanismos antiapoptóticos no tecido pancreático após o transporte.

A análise densitométrica da imunomarcação para BCL-2 no pâncreas demonstrou valores semelhantes entre os grupos avaliados. O grupo controle, antes do transporte, apresentou média de  $188,6 \pm 2,2$  unidades arbitrárias. Entre as análises dos órgãos submetidos ao transporte, o grupo embalagem controle apresentou média de  $168,1 \pm 6,6$  unidades arbitrárias, enquanto o grupo EMAIS-SR apresentou média de  $175,4 \pm 5,1$  unidades arbitrárias. Observa-se discreta tendência à maior intensidade de marcação no grupo experimental, sugerindo melhor preservação da integridade celular após o transporte, embora sem diferença expressiva entre os grupos.

Nos cortes imuno-histoquímicos para p53, não foi observada imunorreatividade nuclear específica, indicando ausência de expressão detectável dessa proteína nas amostras pancreáticas analisadas. Esse achado é biologicamente compatível com a integridade estrutural e funcional do tecido pancreático estudado.

Embora a preservação morfológica das ilhotas pancreáticas tenha sido evidenciada, a identificação específica de grânulos de insulina por imunomarcação não foi realizada neste estudo, configurando um objetivo para investigações futuras.

A Tabela 4 apresenta as fotomicrografias de cortes histológicos de pâncreas submetidos à imuno-histoquímica para BCL-2 e p53 nos diferentes grupos analisados.

**Tabela 4.** Fotomicrografias de cortes histológicos de pâncreas submetidos à imuno-histoquímica para BCL-2 e p53 nos diferentes grupos analisados.

Fonte: Elaborada pelos autores. Aumento de 20×. Barra de escala = 50 µm.

## DISCUSSÃO

A discussão dos padrões térmicos de preservação do pâncreas para transplante é fundamental, visto que o órgão é particularmente sensível às variações térmicas durante o armazenamento e transporte. As diretrizes atuais sugerem temperaturas entre 2 °C e 8 °C, com o ideal próximo a 4 °C<sup>9</sup>. No entanto, observa-se uma lacuna significativa quanto à validação clínica definitiva desses limites térmicos, especialmente diante da introdução de novas tecnologias e soluções de preservação. Neste estudo, destacou-se a superioridade da solução tecnológica EMAIS-SR, que dispensa o uso de gelo, proporcionando melhor preservação celular, mesmo quando comparada à embalagem convencional com gelo. Isso indica que o padrão atual pode necessitar de revisões futuras à luz de tecnologias emergentes<sup>7-9</sup>.

Embora os resultados sejam apresentados separadamente para os protótipos EMAIS-SR TRL6 e TRL7, ambos representam estágios distintos de maturidade da mesma tecnologia de embalagem ativa, não configurando sistemas independentes, mas versões evolutivas com o mesmo princípio de controle térmico.

Considerando que todos os tempos de permanência permaneceram amplamente abaixo do limite clínico de isquemia fria descrito na literatura, a variação observada no tempo de acondicionamento não foi considerada suficiente para justificar, isoladamente, diferenças relevantes na viabilidade histológica entre os grupos<sup>6-8</sup>.

Adicionalmente, é importante mencionar que a aferição da temperatura por termômetro interno e de superfície demonstrou resultados divergentes em alguns casos, ressaltando que medições superficiais podem subestimar ou superestimar a temperatura real interna dos órgãos, o que implica um alerta para métodos padronizados mais precisos na prática clínica. A utilização de termômetros de superfície é mais indicada por esses não terem contato com os órgãos; contudo, padronizações e margens de erro precisam ser estabelecidas. Isso é visualizado em outros estudos que avaliaram a temperatura de rins em cenários reais, ambos com instrumentos de aferição diferentes e com graus de confiabilidade distintos, o que limita a comparação dos achados<sup>10,11</sup>.

Pesquisas recentes com outros órgãos, como pulmão<sup>12,13</sup>, também têm revisitado os padrões térmicos tradicionais, sugerindo ajustes nas faixas de temperatura para maximizar a viabilidade pós-transplante e otimizar o tempo entre captação e transplante. Esses estudos reforçam a importância da contínua investigação de limites térmicos específicos e individualizados para cada tipo de órgão, levando em consideração suas características metabólicas e susceptibilidade à lesão isquêmica.

Com relação à avaliação macroscópica utilizada no estudo, a análise visual fornece informações iniciais importantes sobre a integridade física do órgão<sup>6</sup>. Contudo, esse método apresenta limitações significativas, uma vez que depende da subjetividade do observador e não detecta alterações estruturais e funcionais profundas, particularmente aquelas de nível celular. Por isso, é recomendável que a avaliação qualitativa visual seja complementada por métodos objetivos, como a histologia, para garantir avaliação mais abrangente da viabilidade.

A análise morfológica do pâncreas corado por HE evidenciou adequada preservação estrutural do parênquima pancreático nas amostras analisadas antes do transporte, envolvendo os compartimentos exócrino e endócrino. Nessas amostras, observou-se organização preservada dos ácinos pancreáticos, com citoplasma íntegro e limites celulares bem definidos, bem como ilhotas pancreáticas com contornos regulares, arquitetura celular preservada e clara distinção em relação ao tecido exócrino adjacente, caracterizando um padrão morfológico compatível com integridade tecidual basal<sup>14</sup>.

Após o transporte, diferenças discretas foram observadas entre os grupos experimentais. No grupo embalagem controle, os cortes corados por HE revelaram alterações compatíveis com estresse tecidual leve, incluindo rarefação focal do parênquima exócrino, heterogeneidade na disposição dos ácinos e vacuolização citoplasmática pontual. As ilhotas pancreáticas, embora preservadas e identificáveis, apresentaram, em alguns campos, limites menos definidos e discreta heterogeneidade celular, sugerindo maior sensibilidade do compartimento endócrino às condições de acondicionamento. Em contraste, no grupo EMAIS-SR, o parênquima pancreático apresentou organização mais homogênea, com ácinos bem preservados e ilhotas pancreáticas mantendo contornos regulares e arquitetura celular íntegra, aproximando-se do padrão observado nas amostras antes do transporte.

A análise imuno-histoquímica complementou os achados morfológicos. A proteína p53 atua como reguladora central da estabilidade genômica, sendo ativada principalmente em resposta a danos ao DNA, hipóxia ou estresse oxidativo, enquanto, em condições fisiológicas, seus níveis permanecem baixos devido à degradação contínua mediada por MDM2<sup>15,16</sup>. No estudo, não foi observada imunoreatividade nuclear específica para p53 nas amostras analisadas, tanto antes quanto após o transporte, nos grupos embalagem controle e EMAIS-SR, abrangendo o parênquima exócrino e as ilhotas pancreáticas. Esse padrão é compatível com a manutenção da homeostase genômica e com a ausência de ativação significativa de vias apoptóticas dependentes de p53<sup>17,18</sup>.

A ausência de expressão detectável de p53 nas amostras antes do transporte reforça a interpretação de que esse tecido representa o estado basal de integridade pancreática. Nos grupos pós-transporte, a manutenção desse perfil indica que, apesar das alterações morfológicas discretas observadas no grupo embalagem controle, não houve estímulo lesivo suficiente para desencadear resposta apoptótica clássica mediada por p53. No grupo EMAIS-SR, a associação entre morfologia preservada e ausência de p53 reforça a eficácia do método de acondicionamento na manutenção das condições fisiológicas do tecido pancreático<sup>19</sup>.

A expressão citoplasmática de BCL-2 observada no tecido pancreático, incluindo células do compartimento exócrino e das ilhotas pancreáticas, complementa esse cenário. A proteína BCL-2 desempenha papel fundamental na inibição da via intrínseca da apoptose, ao bloquear a liberação mitocondrial de citocromo c<sup>20,21</sup>. A presença de imunopositividade para BCL-2 nas amostras antes do transporte indica expressão basal de mecanismos celulares de sobrevivência. Após o transporte, a manutenção da expressão de BCL-2 nos grupos embalagem controle e EMAIS-SR sugere preservação desses mecanismos, com discreta tendência a maior intensidade de marcação no grupo experimental, em consonância com os resultados densitométricos<sup>22</sup>.

A integração entre os achados morfológicos e imuno-histoquímicos demonstra coerência entre estrutura e função celular no pâncreas avaliado. As amostras analisadas antes do transporte representam o padrão basal de integridade tecidual, enquanto o grupo EMAIS-SR manteve características morfológicas e moleculares mais próximas desse padrão após o transporte. O grupo embalagem controle apresentou alterações estruturais discretas, porém sem evidências de ativação de vias apoptóticas dependentes de p53, com manutenção da expressão de BCL-2 como possível mecanismo adaptativo de proteção celular.

A análise imuno-histoquímica foi realizada em lâminas selecionadas após avaliação morfológica prévia por HE, em conformidade com a literatura metodológica consolidada<sup>23,24</sup>. Dessa forma, ao associar os achados morfológicos obtidos por HE às vias moleculares avaliadas, conclui-se que o método de acondicionamento empregado no grupo EMAIS-SR foi eficaz na preservação do parênquima pancreático e das ilhotas pancreáticas, mantendo condições próximas àquelas observadas antes do transporte e contribuindo para a manutenção da homeostase celular.

Este estudo pode ainda fornecer *insights* importantes sobre os métodos empregados na prática clínica atual para avaliação de viabilidade dos órgãos. A combinação das análises macroscópica e histológica aqui empregadas sugere que protocolos futuros possam beneficiar-se significativamente da inclusão de medidas mais objetivas e tecnológicas, não apenas na etapa final pré-transplante, mas ao longo de todo o processo de transporte e acondicionamento.

Por fim, as limitações do estudo devem ser consideradas. Por ser um estudo pré-clínico conduzido em modelo animal, os resultados não podem ser diretamente extrapolados para a prática clínica humana sem validação adicional em estudos clínicos robustos. Além disso, o número reduzido de órgãos estudados limita a generalização dos resultados. Estudos futuros com amostras maiores e diversificadas são necessários para corroborar esses achados iniciais.

## CONCLUSÃO

O estudo demonstrou, por meio de modelo experimental pré-clínico, que, embora o pâncreas tenha sido mantido dentro da faixa recomendada de temperatura em nove dos 10 experimentos realizados, os órgãos acondicionados na embalagem EMAIS-SR

apresentaram-se mais bem preservados. O único caso em que houve elevação de temperatura após o acondicionamento, com temperatura final de 12,1 °C, ocorreu na embalagem tradicional com gelo. Embora esse pâncreas tenha apresentado melhora no aspecto visual, segundo avaliação macroscópica, a análise histológica revelou alterações indicativas de prejuízo à preservação do órgão.

Diante das inovações em soluções de preservação e tecnologias disponíveis, torna-se necessária a realização de novos estudos para confirmar os limites térmicos estabelecidos. Portanto, esta pesquisa reforça a importância e a necessidade de estudos futuros mais robustos, que possam embasar decisões clínicas sobre limites térmicos seguros e aprimorar as boas práticas relacionadas ao transporte de pâncreas para transplante.

## CONFLITOS DE INTERESSE

Nada a declarar.


## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

**Contribuições científicas e intelectuais substanciais para o estudo:** Paim SMS, Cruz VA, Gomes KSC, Araujo JKS, Coutinho GMM, Teraoka EC, Leite RF, Gonçalves VA, Carbonel AA, Simões MJ, Soares JH, Taha MO, David AI, Schirmer J, Roza BA; **Concepção e design:** Paim SMS, Cruz VA, Coutinho GMM, Teraoka EC, Leite RF, Gonçalves VA, Carbonel AA, Simões MJ, Taha MO, David AI, Schirmer J, Roza BA; **Análise e interpretação dos dados:** Paim SMS, Cruz VA, Gomes KSC, Araujo JKS, Coutinho GMM, Teraoka EC, Leite RF, Gonçalves VA, Carbonel AA, Simões MJ, Soares JH, Taha MO, David AI, Schirmer J, Roza BA; **Redação do artigo:** Paim SMS, Cruz VA, Gomes KSC, Araujo JKS, Coutinho GMM, Teraoka EC, Leite RF, Gonçalves VA, Carbonel AA, Simões MJ, Soares JH, Taha MO, David AI, Schirmer J, Roza BA; **Revisão crítica:** Paim SMS, Cruz VA, Gomes KSC, Araujo JKS, Coutinho GMM, Teraoka EC, Leite RF, Gonçalves VA, Carbonel AA, Simões MJ, Soares JH, Taha MO, David AI, Schirmer J, Roza BA; **Aprovação final:** Paim SMS.

## DISPONIBILIDADE DE DADOS DE PESQUISA

Os dados serão fornecidos mediante solicitação.

## FINANCIAMENTO

Financiadora de Estudos e Projetos   
Projeto No: 2168/20.

## DECLARAÇÃO DE USO DE FERRAMENTAS DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Não foi utilizada IA em nenhuma etapa do desenvolvimento da pesquisa ou do artigo.

## AGRADECIMENTOS

Ao grupo de trabalho Safe-TX.

## REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2021. *Diabetes Care*, 2021 44(Suppl 1): S1-S232. <https://doi.org/10.2337/dc11-S011>
2. Beringer K, Brethauer SA. Pancreas transplantation: indications and outcomes. *J Diabetes Sci Technol*, 2015; 9 (3): 563-72. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2018.09.007>
3. Mei S, Huang Z, Dong Y, Chen Z, Xiang J, Zhou J, et al. Pancreas preservation time as a predictor of prolonged hospital stay after pancreas transplantation. *J Int Med Res*, 2021; 49 (2). <https://doi.org/10.1177/0300060520987059>

4. Roza BA, Schuantes-Paim SM, Leite R, Carbonel AF, Taha MO, David AI, et al. Safe transport of organs and tissues for transplants: technological innovation product validation method. *Rev Assoc Med Bras*, 2023; 69 (6): e20221537. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20221537>
5. Schuantes-Paim SM, Leite RF, Gonçalves VAC, Carbonel AA, Teraoka EC, Coutinho GMM, et al. Static cold package for transporting organs for transplants: validation method and pilot test. *Sao Paulo Med J*, 2025; 143 (6): e20252930. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2025.2930.29042025>
6. Kulu Y, Gollapudi N, de Klerk M, Ucar A, Furtado M, Kitzmiller J, et al. Expanding pancreas donor pool by evaluation of unallocated organs after brain death. Study protocol clinical trial (SPIRIT Compliant). *Medicine*, 2020; 99 (10). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019335>
7. Whaley D, Damyar K, Witek RP, Mendoza A, Alexander M, Lakey JR. Cryopreservation: an overview of principles and cell-specific considerations. *Cell Transplant*, 2021; 30. <https://doi.org/10.1177/0963689721999617>
8. Prudhomme T, Mulvey JF, Young LAJ, Mesnard B, Lo Faro ML, Ogbemudia AE, et al. Ischemia-reperfusion injuries assessment during pancreas preservation. *Int J Mol Sci*, 2021; 22 (10): 5172. <https://doi.org/10.3390/ijms22105172>
9. Mazilescu LI, Parmentier C, Kalimuthu SN, Ganesh S, Kawamura M, Goto T, et al. Normothermic ex situ pancreas perfusion for the preservation of porcine pancreas grafts. *Am J Transplant*, 2022; 22 (5): 1339-49. <https://doi.org/10.1111/ajt.17019>
10. Kuipers TGJ, Hellegering J, El Moumni M, Krikke C, Haveman JW, Berger SP, et al. Kidney temperature course during living organ procurement and transplantation. *Transpl Int*, 2017; 30: 162-9. <https://doi.org/10.1111/tri.12892>
11. Lima AC, Alves JCR, Borga AL, Ocampos HBL, Deboni LM, Guterres JCP, et al. Análise da temperatura durante o armazenamento e o período de isquemia morna do enxerto em transplantes renais. *Braz J Transplant*, 2023; 26: e0423. [https://doi.org/10.53855/bjt.v26i1.482\\_PORT](https://doi.org/10.53855/bjt.v26i1.482_PORT)
12. Abdelnour-Berchtold E, Ali A, Baciú C, Beroncal EL, Wang A, Hough O, et al. Evaluation of 10 °C as the optimal storage temperature for aspiration-injured donor lungs in a large animal transplant model. *J Heart Lung Transplant*, 2022; 41(12): 1679-88. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2022.08.025>
13. Ali A, Hoetzenecker K, de la Cruz JLCC, Schwarz S, Barturen MG, Tomlinson G, et al. Extension of cold static donor lung preservation at 10 °C. *NEJM Evidence*, 2023; 2 (6): EVIDoA2300008. <https://doi.org/10.1056/EVIDoA2300008>
14. Longnecker DS. Anatomy and histology of the pancreas. *Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowl Base*. 2021;1.0. [acesso em 23 Feb 2026]. Disponível em: <https://pancreapedia.org/sites/default/files/Anatomy-And-Histology-of-the-Pancreas-Version-2.pdf>
15. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature*, 1997; 387(6630): 296-9. <https://doi.org/10.1038/387296a0>
16. Vousden KH, Lane DP. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007; 8 (4): 275-83. <https://doi.org/10.1038/nrm2147>
17. Kruse JP, Gu W. Modes of p53 regulation. *Cell*, 2009; 137 (4): 609-22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.050>
18. Aubrey BJ, Strasser A, Kelly GL. Tumor-suppressor functions of the TP53 pathway. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016; 6 (5): a026062. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026062>
19. Levine AJ. p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery. *Nat Rev Cancer*, 2020; 20 (8): 471-80. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0262-1>
20. Korsmeyer SJ, Shutter JR, Veis DJ, Merry DE, Oltvai ZN. Bcl-2/Bax: a rheostat that regulates cell death. *Semin Cancer Biol*. 1993 [acesso em 23 Feb 2026]; 4 (6): 327-32. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/8142617>
21. Kale J, Osterlund E, Andrews D. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ*, 2018; 25: 65-80. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.186>
22. Botrus G, Miller RM, Uson Junior PLS, Kannan G, Han H, Von Hoff DD. Increasing stress to induce apoptosis in pancreatic cancer via the unfolded protein response (UPR). *Int J Mol Sci*, 2022; 24 (1): 577. <https://doi.org/10.3390/ijms24010577>
23. Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques*. 7ª. ed. Philadelphia: Elsevier, 2013.
24. Ramos-Vara JA. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol*, 2005; 42 (4): 405-26. <https://doi.org/10.1354/vp.42-4-405>