

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia

Tese de doutorado

**A INFLUÊNCIA DO DANO DE ISQUEMIA/REPERFUSÃO NA FUNÇÃO DO
ENXERTO E NA EVOLUÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA IMEDIATA EM
PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE HEPÁTICO
o papel da biópsia de reperfusão**

Mário Reis Álvares-da-Silva

Porto Alegre, 2000

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia

Tese de doutorado

**A INFLUÊNCIA DO DANO DE ISQUEMIA/REPERFUSÃO NA FUNÇÃO DO
ENXERTO E NA EVOLUÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA IMEDIATA EM
PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE HEPÁTICO
o papel da biópsia de reperfusão**

Mário Reis Álvares-da-Silva

Orientador: Luiz Maraninchi Pereira-Lima

Porto Alegre, 2000

Aos que se foram e aos que aqui estão, 55 parceiros de muita luta e dedicação, esperança e expectativa, superação, coragem e crença na vida. Os momentos compartilhados, tanto os de extrema alegria quanto os de aflição e tristeza, não serão esquecidos. Trago comigo cada rosto, cada expressão, gesto e história. A reintegração à vida - família, trabalho, lazer, o cotidiano que lhes havia sido prematuramente roubado. As páginas que se seguem contam um pouco de suas conquistas e seu legado, resumido em um verbo, a mim tão caro, que encerra toda uma filosofia: recomeçar.

Dedicatória

*Para **Rosane**, minha esposa, namorada desde a faculdade – e lá se vão 16 anos -, pelo convívio de carinho, paz e, por que não?, excepcional culinária. E também por suportar, com sua paciência e com seu sorriso, todos esses anos de transplante hepático, sem horas de trabalho e lazer definidas.*

*Para **Conrado**, meu filho, em quem me reconheço, reconheço minha esposa, semelhanças impressionantes com meu pai, que em seus 5 anos exibe sua personalidade ímpar, determinada e forte, e demonstra que respeito e amizade são conquistas diárias e prazerosas, e que as relações entre os indivíduos devem ser sempre guiadas pela noção de igualdade.*

*A meus pais, **Cida e Martinho**, especiais, excepcionais, que me transmitiram, cada um a seu modo peculiar e terno, desde a infância, princípios de trabalho, honestidade, autoconfiança e respeito.*

Agradecimento especial

Ao Prof. Dr. Carlos Thadeu Schmidt Cerski, que tem me conduzido pelo fascinante e envolvente caminho da hepatopatologia, companheiro de inúmeras reuniões de avaliação de lâminas e análise de protocolos, sempre de forma atenta, serena e irrepreensível. Querido amigo, alia como muito poucos, aqueles realmente especiais, a excelência científica, a gentileza no trato e a correta postura de um verdadeiro mestre.

Agradecimentos

*Meu primeiro contato com um paciente durante a graduação médica, na disciplina de Semiologia, numa à época empobrecida Santa Casa, foi durante uma aula prática do **Prof. Dr. Luiz Pereira-Lima**. Pouco afeito que sempre fui às lides cirúrgicas, nos anos seguintes nosso contato foi pouco mais que social. Quis o acaso que nos reencontrássemos no início de 1996, na constituição do Grupo de Transplante Hepático Adulto do Hospital de Clínicas. O período que se seguiu, de convívio intenso, foi marcante. Não posso deixar de agradecê-lo pelos novos rumos dados à minha carreira, pois certamente ajudou a moldá-los.*

*Ao **Prof. Dr. Carlos Fernando de Magalhães Francesconi**, pelos ensinamentos, temperança e pelo apoio em todos os momentos, por vezes bastante difíceis, destes últimos 4 anos. Não obstante, devo também meus agradecimentos pela confiança depositada no meu trabalho, ao possibilitar que eu enveredasse pelos caminhos do transplante hepático.*

*Mesmo a distância, aos membros da Liver Transplant Unit – University of Nebraska Medical Center, Omaha, Estados Unidos, em especial ao **Prof. Alan Langnas** e ao **Prof. Michael Sorrell**, por terem gentilmente me acolhido em seu serviço. A observação atenta do seu trabalho e conduta, de sua capacidade criativa e excelência técnica e científica, foi determinante para meu crescimento na difícil arte do transplante hepático.*

*Ao **Prof. Dr. Sérgio Gabriel Silva de Barros**, responsável direto pela posição que hoje ocupa o Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia da UFRGS, pelo seu constante apoio, incentivo e generosidade científica.*

*Aos colegas do antigo Grupo de Transplante Hepático Adulto do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, na pessoa do **Dr. Fábio Luiz Waechter**, caro amigo,*

companheiro no atendimento diuturno dos pacientes incluídos neste estudo. Sua excelência técnica e a inesgotável capacidade de trabalho merecem ser festejadas.

*Ao **Prof. Dr. Mario Bernardes Wagner**, pela análise estatística, uma empreitada de várias horas de reunião, sempre bastante agradáveis.*

*Ao **Prof. Dr. Elvino José Guardão de Barros**, pelos comentários e análise crítica na fase inicial deste estudo, que determinaram uma decisiva mudança de enfoque nos rumos da pesquisa.*

*À **Enfa. Mara Rosani Azambuja Soares** e à **Nutr. Catarina Bertaso Andreatta Gottschall**, queridas colegas, cuja contribuição ao grupo de transplante hepático do HCPA foi imprescindível para a realização deste estudo.*

*Às enfermeiras e auxiliares do 5º Sul e, especialmente, do 7º Sul do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sempre tão dedicados, na figura da **Enfa. Maria do Carmo Silveira**.*

*Aos **Álvares-da-Silva**, meus familiares, cada vez mais numerosos, pelo incentivo constante e pelos tradicionais almoços de domingo, carinhosos, reconfortantes, imprescindíveis, e aos meus sogros, **Yonne e Sady Fantin**, pela sua costumeira disponibilidade e atenção.*

*Ao secretário do serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, **Sr. Fernando Augusto Soares**, pelo dedicado auxílio em todos estes anos de transplante hepático e pela consultoria na parte gráfica deste estudo.*

Aos médicos-residentes do serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, cujo auxílio, em vários momentos, foi extremamente importante no atendimento dos pacientes estudados.

Aos pacientes que em algum momento foram avaliados ou listados para transplante – e não chegaram a fazê-lo.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS *11*

LISTA DE TABELAS *14*

LISTA DE FIGURAS *18*

RESUMO *21*

ABSTRACT *24*

1. INTRODUÇÃO *27*

1.1. O transplante hepático *28*

1.2. O dano de isquemia/reperfusão *33*

1.2.1. Considerações gerais *33*

1.2.2. A lesão de pré-preservação *36*

1.2.3. A lesão de preservação a frio *37*

1.2.4. A lesão de preservação a quente *39*

1.2.5. A lesão de reperfusão *39*

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO *49*

- 3. OBJETIVOS *52*
- 4. PACIENTES E MÉTODOS *54*
 - 4.1. Pacientes *55*
 - 4.2. Métodos *55*
 - 4.3. Variáveis em estudo *57*
 - 4.4. Logística do estudo *60*
 - 4.5. Aspectos éticos *61*
 - 4.6. Análise estatística *62*
- 5. RESULTADOS *63*
 - 5.1. Características demográficas dos pacientes estudados *64*
 - 5.2. Dados referentes aos doadores *66*
 - 5.3. Dados referentes ao procedimento cirúrgico *68*
 - 5.4. Dados referentes ao período pós-operatório *70*
 - 5.5. Dados anatomopatológicos *74*
 - 5.5.1. Biópsia de congelação *74*
 - 5.5.2. Biópsia de reperfusão *75*
 - 5.6. Comparações *84*
 - 5.6.1. Em relação a óbito *84*
 - 5.6.2. Em relação à insuficiência renal aguda *87*

- 5.6.2.1. Pacientes que apresentaram insuficiência renal aguda **88**
 - 5.6.2.2. Pacientes que apresentaram insuficiência renal aguda com necessidade de hemodiálise **94**
 - 5.6.3. Em relação à disfunção inicial do enxerto **97**
 - 5.6.4. Associação entre variáveis do doador e lesão de preservação **99**
 - 5.6.5. Associação entre dados bioquímicos e histológicos em relação ao dano de preservação **100**
 - 5.6.6. Análise da influência do dano de preservação na sobrevida **102**
- 6. DISCUSSÃO 105**
- 6.1. A função do enxerto **106**
 - 6.2. Em relação ao desenho do estudo e definição das variáveis **110**
 - 6.3. Em relação às características dos doadores **114**
 - 6.4. Em relação às características dos receptores **115**
 - 6.5. Em relação ao procedimento cirúrgico **118**
 - 6.6. Em relação ao período pós-operatório **123**
 - 6.6.1. Em relação à insuficiência renal aguda **123**
 - 6.6.2. Em relação à disfunção do enxerto **126**
 - 6.6.3. Em relação à evolução a óbito **127**
 - 6.7. Em relação aos dados anatomopatológicos **128**

6.8. Utilidade do teste *134*

7. CONCLUSÕES *136*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *138*

ANEXOS *178*

1. Avaliação pré-transplante
2. Avaliação nutricional subjetiva global
3. Procedimentos sobre o receptor na chegada para transplante hepático
4. Classificação de Child-Pugh
5. Estágio UNOS
6. Protocolo de coleta de dados na ablação do fígado do doador
7. Protocolo para análise da biópsia de congelação
8. Protocolo para análise da biópsia de reperfusão
9. Protocolo para avaliação de rejeição pós-transplante
10. Ficha individual para controle dos dados
11. Resultados parciais do estudo (publicação em revista)

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTO = Associação Brasileira de Transplante de Órgãos

ALT = alanina-aminotransferase

AKBR = índice corporal de cetonas arteriais

ANSG=avaliação nutricional subjetiva global

AST = aspartato-aminotransferase

CHAD = concentrado de hemácias

CID = classificação internacional de doenças

CK = células de Kupffer

CMV = citomegalovírus

CTI = Centro de Tratamento Intensivo

DM = diabete mérito

DP = desvio-padrão

DPC = desnutrição proteico-calórica

DPE = disfunção primária do enxerto

EBV = Epstein-Barr vírus

FAM = força do aperto da mão não-dominante

HBV = vírus da hepatite B

HBIG = globulina hiperimune para o vírus B

HCV= vírus da hepatite C

HD = hemodiálise

ICAM = moléculas de adesão intracelular

IFN = interferon

IL = interleucina

IRA = insuficiência renal aguda

MEGX = monoetilglicinexilidida

MHC = complexo principal de histocompatibilidade

NFPE = não-função primária do enxerto

NIH = National Institutes of Health

PCR = parada cardiorrespiratória

PCI = pré-condicionamento isquêmico

PGE1 = prostaglandina E1 (alprostadil)

REP = índice de reperfusão

RL = Ringer-lactato

SHR = síndrome hepatorenal

TIPS = derivação porto-sistêmica transjugular

TNF α = fator de necrose tumoral

TP = tempo de protrombina

TxH = transplante hepático

UNOS = United Network for Organ Sharing

UW = solução da Universidade de Wisconsin

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Fatores de risco para o enxerto **35**
- Tabela 2. Incidência de morte, retransplante e disfunção primária do enxerto na primeira semana pós-transplante e sobrevida em 1 ano de acordo com os níveis de AST **35**
- Tabela 3. Papel dos componentes da solução UW **45**
- Tabela 4. Fatores de risco relativos e absolutos à má evolução pós-transplante **48**
- Tabela 5. Análise dos fatores relacionados a óbito na primeira semana pós-transplante **86**
- Tabela 6. Índice de reperfusão e evolução a óbito **86**
- Tabela 7. Isquemia a frio e evolução a óbito **86**
- Tabela 8. Tempo de isquemia a quente e evolução a óbito **87**
- Tabela 9. Fatores de risco relacionados a óbito – regressão logística **87**
- Tabela 10. Análise dos fatores associados à insuficiência renal aguda na primeira semana pós-transplante **89**
- Tabela 11. Insuficiência renal aguda e índice de reperfusão **90**
- Tabela 12. Insuficiência renal aguda e isquemia a frio **90**
- Tabela 13. Insuficiência renal aguda e isquemia a quente **91**
- Tabela 14. Hemoderivados e insuficiência renal aguda **92**

- Tabela 15. Comparação entre IRA pós-transplante e a presença de IRA pré-operatória, DM, tipo de anastomose caval e cirrose pelo vírus C **93**
- Tabela 16. Fatores de risco para insuficiência renal aguda – regressão logística **94**
- Tabela 17. Análise dos fatores relacionados à hemodiálise na primeira semana pós-transplante **95**
- Tabela 18. Hemodiálise e índice de reperfusão **96**
- Tabela 19. Hemodiálise e isquemia a frio **96**
- Tabela 20. Hemodiálise e isquemia a quente **97**
- Tabela 21. Disfunção primária do enxerto e lesão de preservação **97**
- Tabela 22. Disfunção primária do enxerto e índice de reperfusão **98**
- Tabela 23. Fatores de risco para disfunção primária do enxerto – regressão logística **98**
- Tabela 24. Comparação entre a lesão de preservação aferida por critérios anatomopatológicos (dano de preservação) ou bioquímicos (índice de reperfusão) e a concordância de gênero entre doador e receptor **99**
- Tabela 25. Parada cardiorrespiratória no doador e sua influência na lesão de preservação aferida por critérios anatomopatológicos (dano de preservação) ou bioquímicos (índice de reperfusão) **100**
- Tabela 26. Dano de preservação – variáveis anatomopatológicas e bioquímicas **101**
- Tabela 27. Comparação entre as médias do índice de reperfusão de acordo com o dano de preservação anatomopatológico **102**

- Tabela 28. Sensibilidade, especificidade e valores preditivos para o dano de preservação com intervalos de confiança (95%) **102**
- Tabela 29. Sobrevida atuarial em 1 ano de acordo com o índice de reperfusão **103**
- Tabela 30. Complicações pós-transplante hepático **107**

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Evolução dos transplantes hepáticos no Brasil **32**
- Figura 2. Hipóxia tecidual e suas conseqüências **39**
- Figura 3. Rolamento, adesão e migração leucocitárias na lesão tecidual **42**
- Figura 4. A lesão de isquemia/reperfusão e sua possível influência na rejeição do enxerto **47**
- Figura 5a. Logística usada para a realização do estudo **61**
- Figura 5b. Doenças responsáveis pela indicação de transplante hepático na amostra estudada **65**
- Figura 6. Comportamento das aminotransferases do doador no momento da ablação do enxerto **67**
- Figura 7. Hemoderivados utilizados durante o transplante hepático **70**
- Figura 8. Comportamento da média das aminotransferases na primeira semana pós-transplante **72**
- Figura 9. Evolução do tempo de protrombina e Fator V na primeira semana pós-transplante **72**
- Figura 10. Distribuição dos indivíduos transplantados de acordo com o índice de reperfusão **73**
- Figura 11. Achados mais comuns na análise das biópsias de congelação **75**

Figura 12.	Achados mais comuns na análise das biópsias de reperfusão	77
Figura 13.	Biópsia de congelação	78
Figura 14.	Biópsia de reperfusão	78
Figura 15.	Biópsia de congelação	79
Figura 16.	Biópsia de reperfusão	79
Figura 17.	Biópsia de congelação	80
Figura 18.	Biópsia de reperfusão	80
Figura 19.	Biópsia de reperfusão	81
Figura 20.	Biópsia de congelação	81
Figura 21.	Biópsia de reperfusão	82
Figura 22.	Biópsia de reperfusão	82
Figura 23.	Biópsia hepática	83
Figura 24.	Biópsia hepática	84
Figura 25.	Curva de sobrevida atuarial em 1 ano dos pacientes estudados	103
Figura 26.	Curva de sobrevida atuarial em 1 ano dos pacientes estudados, de acordo com o dano de preservação apresentado	104

RESUMO

RESUMO

O transplante hepático é o tratamento de escolha para uma série de doenças terminais agudas e crônicas do fígado. Contudo, sua oferta tem sido restringida pela falta de doadores, o que tem provocado o aumento do número de pacientes em lista de espera. A escassez de órgãos condiciona a aceitação para transplante de enxertos provindos de doadores sem as melhores condições para tal – os chamados doadores marginais. O dano de isquemia/reperfusão (IR) é resultado dos fatores perioperatórios inerentes ao procedimento, incluindo as condições do doador. Quanto pior o doador, pior o órgão transplantado, e maior a possibilidade de desenvolvimento de disfunção primária do enxerto (DPE). DPE comumente é definida pela elevação das enzimas hepáticas. As aminotransferases, entretanto, podem alterar-se por outras complicações que não a lesão de isquemia/reperfusão. A histologia hepática, por sua vez, pode fornecer informações acerca da IR.

Com o objetivo de estimar a extensão histológica do dano de preservação (necrose hepatocelular e neutrofilia sinusoidal), correlacioná-la a variáveis bioquímicas (índice de reperfusão: $AST + ALT + LDH / 3$) e avaliar a sua influência no período pós-operatório imediato (até 7 dias), foi realizado um estudo transversal com análise sistemática de 55 pacientes adultos que receberam seu primeiro enxerto hepático entre Setembro de

1996 e Dezembro de 1999. Foram comparados os fatores de risco relacionados ao doador, ao receptor, ao procedimento cirúrgico e ao período pós-operatório e analisadas as biópsias feitas antes e imediatamente após o procedimento cirúrgico.

Houve dano de preservação em todos os pacientes estudados tanto por critérios anatomopatológicos quanto por critérios bioquímicos. Houve associação significativa entre os achados bioquímicos e histológicos ($p=0,04$; coeficiente $\gamma=0,49$). A extensão da necrose hepatocitária parece ser o dado anatomopatológico isolado que melhor se relaciona ao índice de reperfusão ($p=0,05$; coeficiente $\gamma=0,48$). Houve associação entre DPE e a histologia hepática ($p=0,02$). O índice bioquímico associou-se à DPE ($p=0,001$) e à incidência de insuficiência renal aguda (IRA) ($p<0,0001$). A mortalidade inicial foi maior nos pacientes com índice de reperfusão grave ($p=0,002$). O índice de reperfusão foi um fator de risco independente para a função do enxerto ($p=0,004$) e IRA ($0,04$). A sobrevida atuarial em 1 ano foi significativamente menor nos pacientes com dano de preservação grave ($p=0,003$).

A análise da biópsia de reperfusão é capaz de detectar o dano de preservação sofrido pelo enxerto e se correlaciona às variáveis bioquímicas em sua estimativa.

ABSTRACT

ABSTRACT

Orthotopic liver transplantation has become an established therapy for patients with end-stage liver disease. Its rapid growth has been curtailed by the lack of organ donors and has led to an expansion in the number of patients on the waiting list. This growing imbalance has led to the relaxing of selection criteria for donors. Many donors which were previously not considered for transplantation are now used – the called marginal donors. Ischemic/reperfusion injury (IR) within the liver allograft occurs as a result of numerous factors and events inherent to the transplantation process. Worst the donor, worst can be the allograft, and more prone it will be to exhibit initial poor function (IPF). IPF is commonly defined on the basis of elevated liver tests, but early aminotransferase elevation after liver transplantation may result from complications other than ischemic/reperfusion lesion. Liver histology can provide some useful information to assess IR.

We conducted a cross-sectional study on 55 adult liver transplant recipients, who received their first liver allograft between September 1996 and December 1999, in order to assess IR according to biochemical (reperfusion index: $AST + ALT + LDH / 3$) and pathological (sinusoidal neutrophilia and hepatocellular necrosis) variables. The risk factors related to donor, recipient, surgical procedure, and postoperative period (until 7 days)

were studied, as well as liver biopsies collected before and immediately after transplantation.

Some degree of IR was universally found. There was association between biochemical and pathological findings ($p=0,04$; $\gamma=0,49$). There was a trend toward to extension of hepatocellular necrosis to be isolatedly related to reperfusion index ($p=0,05$; $\gamma=0,48$). Liver histology was associated with IPF ($p=0,02$). Reperfusion index was significantly associated to IPF ($P=0,001$) and acute renal failure ($P<0,001$). Early mortality rate was greater when reperfusion index was severe ($p=0,002$). Reperfusion index was an independent risk factor for the development of graft dysfunction ($p=0,004$) and renal failure ($p=0,04$). 1-year patient survival was significantly reduced in patients with severe lesion detected by reperfusion index ($p=0,003$).

Reperfusion biopsy seems to detect preservation injury and it is associated with biochemical parameters for insult assessment.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Transplante Hepático

Embora referências à icterícia sejam encontradas na literatura chinesa antiga, no Talmude hebreu e nos escritos de Hipócrates, somente na história recente a medicina alcançou a identificação e a definição de boa parte das doenças hepáticas (Reddy, 1996), proporcionando à hepatologia mais do que a contemplação da história natural das doenças. O recrutamento de sofisticado armamentário terapêutico, tanto clínico-endoscópico como cirúrgico, tem contribuído nos últimos anos para a melhor e mais eficiente abordagem das hepatopatias. O transplante hepático (TxH) é um divisor de águas, posto que modificou dramaticamente as perspectivas dos pacientes hepatopatas gravemente enfermos. Foi com o advento do transplante que a medicina deixou de abandonar os indivíduos portadores de hepatopatias terminais, antes inapelavelmente condenados ao óbito.

Tentativas de transplantes de tecidos são encontradas em documentos que remontam à Antigüidade, mas os estudos científicos modernos têm seu marco em 1902 com o primeiro relato de transplante de órgãos, quando Ullmann descreveu um bem-sucedido autotransplante renal em um cão. Em 1912, Carrell receberia o Prêmio Nobel pelos seus experimentos que originaram o fundamental conceito de histocompatibilidade. Demonstrava-se, então, que mesmo dentro de uma mesma espécie existem diferentes sistemas genéticos que codificam antígenos teciduais e que estes auto-antígenos atuam como alvo de uma potente resposta imune que determina a rejeição (Turka, 1998). Esta noção de histocompatibilidade, com a demonstração da capacidade discriminante do organismo entre as suas células e células estranhas (*self vs non-self*), o seu entendimento e controle é a base através da qual os transplantes puderam desenvolver-se e permanece até os nossos dias como um constante desafio (Krensky, 1998).

A história do transplante de fígado é uma das maiores sagas da medicina. Os primeiros estudos em animais foram iniciados na primeira metade do século XX, por volta das décadas de 30 e 40. O desenvolvimento técnico-cirúrgico e o surgimento de agentes imunossupressores na década de 50 foram os alicerces fundamentais para que, em 1963, fosse realizado por Thomas Starzl em Denver, Colorado, o primeiro transplante em humanos (Starzl, 1996a). Se o período entre 1963 e 1967 foi marcado por insucessos, couberam-lhe inegavelmente os méritos de desbravar os caminhos que permitiram à técnica aperfeiçoar-se, sedimentados que foram os seus conceitos fundamentais e dirimidos os seus questionamentos intrínsecos. Desta forma, ao TxH foi dado experimentar seus primeiros êxitos apenas no final dos anos 60. Um sucesso relativo: se os pacientes não mais morriam de catástrofes intra-operatórias ou graves complicações no pós-operatório imediato, sua sobrevivência não era longa. Foi com o advento da ciclosporina, um potente fármaco imunossupressor, que, em 1983, através do controle da rejeição, o TxH pôde de fato alcançar melhores resultados, o impulso que faltava para a sua conseqüente disseminação (Williams, 1990; Vera *et al*, 1993; Starzl, 1996b; Yoshida & Lake, 1997). Assim, exatos vinte anos após o primeiro TxH, na Conferência de Consenso do *National Institutes of Health (NIH)*, realizada em Bethesda, Estados Unidos, o procedimento foi resgatado de sua condição de técnica experimental e passou a ser considerado, então, definitivamente um método terapêutico (Levy, 1998).

Tendo recebido a chancela do tempo, o transplante é atualmente o tratamento de escolha para uma série de doenças crônicas e agudas graves do fígado (Langnas & Howard, 1996; Wiesner, 1996). Os seus bons resultados permitiram a ele ser ofertado mais precocemente no curso da doença hepática avançada e não mais apenas ser um ato terapêutico final realizado em condições desesperadoras. A maior parte dos problemas técnicos já foram resolvidos, restando considerações acerca da recorrência de algumas doenças, como a hepatite C, da incidência elevada de complicações biliares, da emergência de cepas bacterianas resistentes a antibióticos e ainda o desafio persistente das infecções fúngicas (Davern & Lake, 1998; Markin & Wright, 1998; Singh, 1998; Snydman, 1999; Sorrell, 1999). Novas áreas têm sido estudadas e

são promissoras. Dispositivos de suporte hepático artificial ao lado de técnicas revolucionárias como o transplante de células, o xenotransplante e a terapia gênica estão sendo alvo de uma série de estudos (Watanabe *et al*, 1997; Fox *et al*, 1998; Lake, 1998; Nyberg & Misra, 1998; Chowdhury, 1999; Fox, 1999; Grompe *et al*, 1999; Gupta *et al*, 1999; Sorrell, 1999; Steer, 1999; Strom *et al*, 1999; Watanabe *et al*, 1999; Cuervas-Mons *et al*, 2000; Maddrey, 2000; Silveira, 2000). O transplante intervivos em crianças já é uma técnica largamente aceita e o uso do lobo direito para o transplante hepático entre adultos tem sido descrito com segurança (Marcos *et al*, 2000.; Trotter *et al*, 2000). A sobrevida mais longa, entretanto, tem condicionado o surgimento de novos problemas no período pós-transplante. Manifestações clínicas secundárias à imunossupressão crônica, como dislipidemia, hipertensão, doença vascular aterosclerótica, insuficiência renal e tumores têm se tornado um outro foco de preocupação, com reflexos na qualidade de vida do indivíduo transplantado (Carson & Hunt, 1997; Reich *et al*, 1998; Sorrell, 1999).

Entre 1987 e 1996 mais de 22.721 pacientes foram submetidos a TxH nos Estados Unidos (Langnas & Howard, 1996). A sobrevida média em 1 e 4 anos dos transplantados hepáticos nos Estados Unidos entre outubro de 1987 e dezembro de 1997 foi de 81,8 e 73,3%, respectivamente. Em 1999, segundo a *United Network for Organ Sharing* (UNOS), organização americana responsável pela procura e distribuição de órgãos, foram realizados 4.698 transplantes hepáticos, de um total de 21.692 transplantes de órgãos. Atualmente há 115 programas de TxH em todos os Estados Unidos (UNOS, 2000), realizando uma média de 30 transplantes ao ano (Langnas & Howard, 1996). Em setembro de 2000, contudo, 16.063 pacientes aguardavam por um novo fígado naquele país. Isto é particularmente perverso quando se analisa a evolução histórica. Entre 1988 e 1996, nos Estados Unidos, houve um incremento de 2,4 vezes no número de pacientes transplantados, mas a lista de espera, em contrapartida, aumentou 12,1 vezes. Ademais, o número de óbitos em lista sofreu um inaceitável acréscimo em torno de 5 vezes. Somente em 1999, 1753 pacientes morreram na lista de espera nos Estados Unidos (UNOS, 2000). O principal fator a limitar o número de pacientes beneficiados com transplantes, não só nos

Estados Unidos, mas em todo o mundo, com a possível exceção da Espanha, é a escassez de órgãos (Norman, 1997; Bosch, 1999; Jiménez-Romero *et al*, 1999; Melendez & Heaton, 1999; McMaster & Vadeyar, 2000). No Rio Grande do Sul, segundo dados da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), há potencial para 20,4 doadores/ano por milhão de habitantes, mas somente são efetivadas doações em 7,1, sendo que em mais de 30% dos casos a não efetivação é provocada pela recusa da família (ABTO, 1999). O transplante, portanto, é indicado mais cedo, promove cada vez melhores resultados, mas é realizado em número ainda insuficiente.

No Brasil o primeiro transplante hepático foi realizado em São Paulo, em 1985, e os dados da ABTO são claros em demonstrar notável incremento a partir do ano de 1991. O número de centros de transplantes de fígado evoluiu de 2 em 1990 para 25 em 1999, divididos em seis estados: São Paulo, 13; Rio Grande do Sul, 3; Paraná, 2; Rio de Janeiro, 2; Minas Gerais, 2 e Pernambuco, 3 – e outros centros têm surgido (ABTO, 1999; Sette *et al*, 2000). O número de pacientes transplantados igualmente aumentou: foram 10 em 1990 e em torno de 300 em 1999 (ver Figura 1). Analisando os dados da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo nota-se que entre 1994 e 1999 o número de transplantes aumentou 2,6 vezes e a lista de espera 3,8 vezes. O número de óbitos na lista, entretanto, sofreu o impressionante acréscimo de 25 vezes (Sette *et al*, 2000).

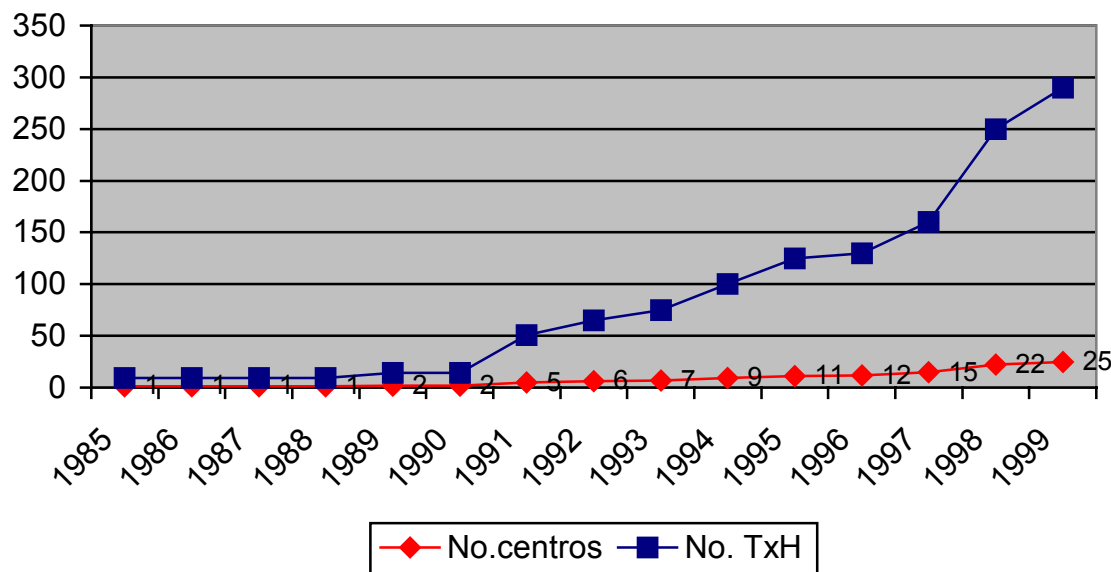


Figura 1. Evolução dos transplantes hepáticos no Brasil

Modificada de Sette *et al*, 2000.

Conseqüência natural da pouca oferta é a tendência à aceitação de órgãos provindos dos chamados doadores marginais, indivíduos com condições hemodinâmicas limítrofes, idade avançada ou presença de infiltração gordurosa significativa, entre outros. Esta conduta expande as fronteiras dos doadores aceitos e tende a aumentar o número de transplantes efetivamente realizados, mas potencialmente expõe os receptores a riscos ainda não conhecidos ou adequadamente documentados por estudos clínicos (De Carlis *et al*, 1996; Jiménez-Romero *et al*, 1999; Melendez & Heaton, 1999; Mirza *et al*, 1999). Um bom exemplo é a aceitação em alguns casos de órgãos oriundos de doadores infectados pelos vírus da hepatite B ou C (Dodson *et al*, 1997; Ascher, 1998; Salizzoni *et al*, 2000) ou ainda aqueles de doadores cadavéricos sem batimentos cardíacos (Minor *et al* 2000). As conseqüências desta atitude certamente ainda não estão devidamente calculadas. Para Schafer & Sorrell, 1996, face à crônica escassez de órgãos, qualquer medicação, técnica ou intervenção que contribua

para a sua maior disponibilidade ou que traga benefícios à sua viabilidade deve ser extremamente bem-vinda.

É de conhecimento geral que pior o doador pior o enxerto, elevando-se as chances do mesmo ser danificado durante os procedimentos de retirada e implante (De Carlis *et al*, 1996). Face à demanda crescente e à oferta limitada, no entanto, o uso de fígados provenientes de doadores marginais parece justificado (Rosen *et al*, 1998; Mueller *et al*, 1999). A reflexão sobre este quadro leva inapelavelmente a uma possível conclusão: a história conduz o transplante hepático para uma era de outra aparentemente intransponível dificuldade técnica a ser superada: melhorar a qualidade do órgão antes e após sua ablação e evitar o posterior dano secundário à isquemia e à reintrodução do oxigênio.

1.2. O dano de isquemia/reperfusão:

1.2.1. Considerações gerais:

Embora o TxH tenha alcançado por seus inegáveis atributos a posição de um procedimento terapêutico e obedeça a protocolos bem estruturados em que as complicações são antevistas e muitas vezes contornadas, contingências como a disfunção primária do enxerto (DPE) persistem como uma grande causa de morbimortalidade precoce (Post *et al*, 1995). A função inadequada do enxerto no período pós-transplante imediato é provavelmente multifatorial, mas o dano de preservação tem sido freqüentemente implicado (Natori *et al*, 1999; Cohen *et al*, 2000). Obrigatoriamente a realização de um transplante de fígado envolve o surgimento em maior ou menor intensidade de isquemia tecidual. Ademais, a redução da oxigenação pode atingir o enxerto em diferentes fases do processo de troca do órgão doente pelo sadio (Carrasco *et al*, 1996; Shackleton, 1998). Acredita-se que virtualmente todos os enxertos sejam danificados durante o transplante (Gaffey *et al*, 1997; Wang *et al*, 1998; Cohen *et al*, 2000).

Aos fenômenos nocivos secundários a este processo, tanto aqueles decorrentes das condições pré-mórbidas do doador, da isquemia a quente do órgão antes e durante a sua retirada e da adequação da preservação, bem como aqueles provindos do estoque a frio, dá-se o nome de dano de preservação ou ainda dano de isquemia/reperfusão. Outros fatores que podem contribuir a este dano são os provenientes da revascularização e ainda do ambiente pessoal do receptor (Gaffey *et al*, 1997; Rosen & Martin, 1999).

A preservação de um órgão é a chave inicial para o sucesso do transplante. Os objetivos da preservação são manter a viabilidade do órgão pelo maior tempo possível e assegurar o seu funcionamento imediato após o transplante (Southard & Belzer, 1996; Gaffey *et al*, 1997). No entanto, vários fatores podem atuar em diversas fases acarretando dano ao enxerto. São potenciais causas a lesão de pré-preservação, a lesão de preservação a frio, a lesão de preservação a quente e a lesão de reperfusão (Strasberg, 1997). Ver Tabela 1.

Wang *et al*, 1998, demonstraram que, ao menos em modelo animal, ao cabo de 7 dias há recuperação das células sinusoidais, dos hepatócitos e das células de Kupffer atingidas pelo dano de preservação, corroborando a impressão de que as conseqüências da lesão de preservação sejam clinicamente mais importantes na primeira semana.

As lesões decorrentes do dano de preservação costumam influenciar na função do enxerto no período pós-transplante imediato e podem ser aferidas pela magnitude da elevação das enzimas hepáticas, especialmente a aspartato aminotransferase (AST). Rosen *et al*, 1998, estudando 210 indivíduos submetidos a transplante hepático, demonstraram elegantemente que os pacientes com AST acima de 5000 U/L nas primeiras 72 horas pós-transplante têm significativamente menor sobrevida em 1 ano que os restantes – e este dado é bastante importante (ver Tabela 2).

Tabela 1. Fatores de risco para o enxerto

<i>Fatores relacionados ao doador</i>	<i>Fatores relacionados à retirada do órgão</i>	<i>Fatores relacionados ao receptor</i>
1. Doador marginal	1. Maior dano isquêmico	1. Rejeição hiperaguda
Esteatose hepática	Tempo e temperatura de preservação	2. Toxicidade de drogas
Extremos de idade	Dano microvascular/endotelial	3. Liberação de endotoxinas
Instabilidade hemodinâmica	Conteúdo de ATP do enxerto	4. Doença oculta no receptor
Doses de vasopressores	Liberação de proteases	
2. Estado nutricional	2. Maior dano reperfusão	
3. Toxicidade de drogas	Produção de oxirradicais	
4. Doenças associadas	Liberação de peptídeos vasoativos	
	3. Enxertos reduzidos	

Modificada de Colquhoun & Busuttil, 1996.

Tabela 2. Incidência de morte, retransplante e disfunção primária do enxerto na primeira semana pós-transplante e sobrevida em 1 ano de acordo com os níveis de AST.

<i>AST_{máx}</i>	<i>Mortalidade em 7 dias n(%)</i>	<i>Retransplante em 7 dias n(%)</i>	<i>NFPE n(%)</i>	<i>Sobrevida atuarial 1 ano (%)</i>	
				Paciente	Enxerto
< 600	0 (0)	0 (0)	0 (0)	77	77
600-2000	3 (3)	1 (1)	4 (4)	71	67
>2000-5000	0 (0)	5 (10)	5 (10)	73	62
> 5000	1 (6)	6 (35)	7 (41)	52	41
P	NS	< 0,0001	< 0,0001	0,03	0,001

Onde: AST_{máx}= aspartato aminotransferase máxima nas primeiras 72 horas; NFPE= não-função primária do enxerto. Modificada de Rosen *et al*, 1998.

1.2.2. A lesão de pré-preservação:

A lesão de pré-preservação origina-se de condições patológicas já existentes no fígado doado, como esteatose, lesão por álcool ou fármacos, ou ainda a concomitante presença de outras doenças hepáticas. Eventos associados à morte cerebral, como hipotensão ou hipóxia, provocam efeito semelhante a uma isquemia a quente e possuem a clara tendência de danificar o enxerto. A estes fatores somam-se a desnutrição aguda e outros potenciais danos durante a cirurgia para a ablação do órgão, como a hipotensão ou a parada cardiorrespiratória (Strasberg, 1997). Nos indivíduos com morte cerebral podem ocorrer alterações endocrinológicas, dentre elas a síndrome eutireóidea, situação em que há redução dos níveis séricos de triiodotironina (T3) . Isto pode levar à deterioração da função cardíaca e estimular o metabolismo em anaerobiose (Imberti *et al*, 1998).

A hipóxia tecidual tem papel importante na gênese da lesão de pré-preservação. Os doadores que necessitam de grandes doses de dopamina para manter estável sua pressão arterial estão sob risco de considerável lesão hepática (Mirza *et al*, 1999). A parada cardiorrespiratória (PCR), mesmo breve, pode induzir lesão isquêmica adicional ao fígado. Contudo, não tem havido relatos correlacionando episódios de PCR no doador e disfunção do enxerto. Ao contrário, o período de PCR atuaria, ao menos em modelos animais, como uma forma de pré-condicionamento isquêmico (PCI) (Totsuka *et al*, 2000), que pode ser definido como o fenômeno pelo qual um tecido torna-se mais resistente à isquemia por ter sido exposto a breves períodos de oclusão vascular (Ishida *et al*, 1997; Yin *et al*, 1998). Peralta *et al*, 2000, demonstraram que em fígados de rato 10 minutos de isquemia e 10 minutos de reperfusão protegem contra 90 minutos de isquemia a quente posteriores. O PCI atua reduzindo a adesão e a migração leucocitárias pós-isquêmicas através de um mecanismo provavelmente relacionado à menor demanda energética (Totsuka *et al*, 2000) e à elevação dos níveis teciduais de adenosina (Akimitsu *et al*, 1996; Almenara *et al*, 2000; Net *et al*, 2000).

Os doadores idosos durante algum tempo foram evitados pelo temor de que o fígado doado não apresentasse boas condições de funcionamento após o implante. Esta observação não vem se confirmando. Há estudos recentes que sugerem claramente que enxertos provenientes de doadores idosos apresentam função semelhante aos retirados de doadores mais jovens (Washburn *et al*, 1996; Jiménez Romero *et al*, 1999). Doadores muito jovens, entretanto, podem resultar em enxertos de pior qualidade. Yokoyama *et al*, 1992, demonstraram que fígados de doadores com menos de 3 meses de idade resultam em índices proibitivos de trombose de artéria hepática e não recomendam seu uso.

A esteatose hepática é um fator de risco importante ao funcionamento do enxerto pós-transplante (Markin *et al*, 1993; Strasberg, 1997; Miki *et al*, 1998). A análise da biópsia de congelação realizada logo antes do transplante é considerada um método útil para excluir potenciais órgãos lesados e, conseqüentemente, com maior risco de mau funcionamento (Markin *et al*, 1993). Mesmo na avaliação de doador para transplante intervivos pode haver espaço para uma biópsia pré-operatória, visando especialmente avaliar a extensão da esteatose hepática (Flamm *et al*, 2000).

1.2.3. A lesão de preservação a frio:

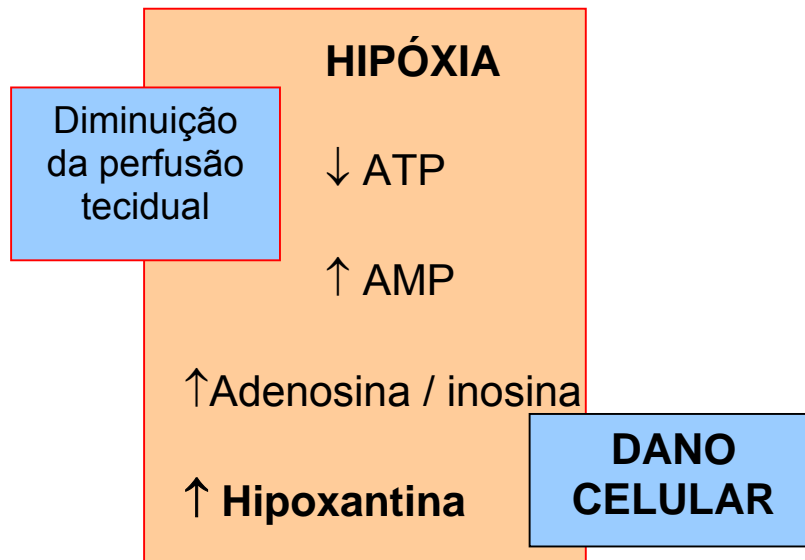
A conservação em gelo é a técnica rotineiramente empregada para a preservação (Southard & Belzer, 1996; Strasberg, 1997), através da combinação do resfriamento da superfície do órgão e da sua perfusão com solução de preservação gelada (Hertl *et al*, 1996). A hipotermia reduz a taxa metabólica e assim prolonga o tempo que as células anóxicas podem reter atividades metabólicas essenciais (Jaeschnke, 1996). Para cada 10°C de redução da temperatura ocorre paralelamente uma queda de 50% na atividade metabólica. A 1°C o metabolismo situa-se em torno de 5% do normal. No entanto, a função de algumas proteases continua a despeito do frio (Strasberg, 1997).

Quando há isquemia, por definição há ausência de fluxo sanguíneo (*no-flow*), caracterizando hipóxia tecidual. A hipóxia determina a diminuição do aporte de

oxigênio à célula, com redução dos fosfatos ricos em energia, redução da atividade da bomba Na/K e alteração na troca de água e íons. Isto promove acúmulo intracelular de íons e conseqüente influxo de água, com edema celular, a que se seguem glicólise em anaerobiose e queda do pH, lado a lado com a elevação do hematócrito intracelular, culminando em dano isquêmico (Strasberg, 1997; Massberg & Messmer, 1998). Períodos prolongados de isquemia a frio correlacionam-se ainda à lesão do endotélio biliar, uma vez que as células não-parenquimatosas são menos tolerantes à isquemia que os hepatócitos (Minor & Isselhard, 1995). Carrasco *et al*, 1996, partindo desta premissa, sugerem que o estudo citológico da bile pode ser útil na detecção de dano a frio significativo.

Durante a fase de isquemia o metabolismo celular anaeróbico promove degradação da adenosina para hipoxantina e conversão da xantina-desidrogenase para xantina-oxidase. Com o restabelecimento do fluxo sanguíneo, o oxigênio reage com a hipoxantina e catalisado pela xantina-oxidase produz oxirradicais que interagem de forma destrutiva com as membranas celulares. A hipoxantina desempenha um papel fundamental nestes eventos (Shackleton, 1998). A Figura 2 resume o que ocorre no ambiente celular quando há isquemia tecidual.

Figura 2. Hipóxia tecidual e suas conseqüências



1.2.3. A lesão de preservação a quente:

O dano de aquecimento ocorre no período entre a retirada do órgão do gelo e sua efetiva implantação no receptor, intervalo este que varia habitualmente entre 30 e 60 minutos. Após 40 minutos da chamada isquemia a quente, o interior do fígado alcança uma temperatura de 20°C. Uma temperatura acima de 22°C parece afetar negativamente o enxerto (Hayashi *et al*, 1998). Períodos longos de isquemia a quente, especialmente de acima de 90 (Cisneros *et al*, 1991) ou 120 minutos (Strasberg, 1997), correlacionam-se diretamente com não-função primária do enxerto. Hertl *et al*, 1996, sugerem que deva ser mantido o resfriamento da superfície do fígado durante e após a retirada do órgão do doador, bem como na implantação do mesmo, visando reduzir o dano sobre o tecido hepático.

1.2.4. A lesão de reperfusão:

A lesão do enxerto imaginariamente cessaria no momento em que o órgão fosse reperfundido pelo sangue portal, no exato instante em que o mesmo retomasse suas relações anatômicas e fisiológicas habituais, mas este cenário é apenas teórico. A reintrodução do fluxo, ou a reperfusão, quando o sangue portal está novamente banhando o fígado (As *et al*, 1999) representa ainda outro momento de potencial dano, por vezes mais notável que as fases prévias (Isozaki *et al*, 1992; Ishida *et al*, 1997; Baron *et al*, 2000) sendo sua extensão dependente do grau de comprometimento do enxerto nas fases anteriores (Strasberg, 1997). O complexo isquemia/reperfusão, por conseguinte, resulta tanto da isquemia quanto da reintrodução do fluxo sangüíneo, no denominado “paradoxo do oxigênio” (Minor & Isselhard, 1995; Post *et al*, 1995; Arora & Gores, 1996). A manutenção inicial da isquemia e a geração de radicais livres de oxigênio desempenham papel determinante na gênese da lesão de reperfusão (Minor & Isselhard, 1995).

A toxicidade do oxigênio está bem demonstrada, tendo sido descrita simultaneamente à época de sua descoberta como componente químico do ar por Priestley em 1774. Nos anos seguintes, Lavoisier e Bert documentaram efeitos nocivos secundários a altas concentrações atmosféricas de oxigênio (Belló-Klein, 1994). Em nível celular, os processos permeados por oxigênio levam a uma produção contínua de radicais livres que necessita ser detoxificada pelo organismo, em razão de seu potencial efeito lesivo (Abrosio *et al*, 1995). As espécies ativas de oxigênio formadas por sua vez agem nos compartimentos extra e intracelulares. No espaço extracelular o ataque é desferido especialmente contra os glicosaminoglicanos, dentre eles o hialuronato, componente essencial do interstício, alterando significativamente a permeabilidade celular (Del Maestro, 1980; Bulke, 1983), com edema intersticial (Massberg & Messmer, 1998), enquanto que no meio intracelular assume importância capital o processo de lipoperoxidação, com lise de organelas lisossomiais (Del Maestro, 1980; Bulke, 1983; Cross *et al*, 1987). Mesmo que o fígado seja um órgão que suporte grande atividade oxidativa sem dano significativo, ele não é imune a este processo tóxico (Petrowsky *et al*, 1995).

A reperfusão é composta de duas fases distintas. Em um primeiro momento persiste a ausência de fluxo (*no-reflow*). Esta fase prolonga a hipóxia, mantendo a elevação do hematócrito intracelular, com conseqüentes redução da fluidez sanguínea e aumento na resistência microvascular. Fluxo reduzido e resistência aumentada resultam necessariamente em oclusão capilar. O pH celular segue, então, diminuindo, o que leva à deformação das células sanguíneas e ao surgimento de microtrombos capilares. Paralelamente ocorre edema das células endoteliais levando à oclusão capilar e ao aumento da resistência microvascular, induzindo maior hipóxia e com isto ainda mais notável dano tecidual. Em uma fase mais adiantada vai ocorrer a reperfusão (*reflow*), e com ela a reoxigenação. Neste momento há a formação de radicais livres de oxigênio, com liberação de citocinas, eicosanóides e proteases (Land, 1998; Shackleton, 1998). O principal mecanismo envolvido na gênese de oxirradicais nas situações de isquemia/reperfusão é o relacionado à enzima xantina-oxidase (Takemoto *et al*, 1994; Nicolli *et al*, 1995; Petrowsky *et al*, 1995; Willet *et al*, 1995; Chavez-Cartaya *et al*, 1996; Bach *et al*, 1996; Rhoden, 1998; Shackleton, 1998). A ativação de polimorfonucleares, com sua interação com o endotélio, leva à peroxidação lipídica e desintegração de membranas celulares, culminando em perda da integridade endotelial e aumento da permeabilidade microvascular, com edema intersticial. Esta cascata de eventos interligados vai promover ainda maior dano ao tecido. Ao lado da destruição celular induzida pelos mecanismos envolvidos na preservação, há indícios em modelos animais de que a isquemia e a liberação de mediadores tóxicos solúveis e citocinas e a formação de oxirradicais podem induzir a morte celular por apoptose (Patel & Gores, 1998). A formação de oxirradicais, por fim, faz com que sejam liberados mediadores de inflamação, como citocinas e fator de agregação plaquetária, e estes induzem as moléculas de adesão celular (Minor & Isselhard, 1995).

As moléculas de adesão intracelular dividem-se em três tipos: as selectinas, as integrinas e as moléculas semelhantes às imunoglobulinas. As selectinas podem ser endoteliais (E-selectina, P-selectina - relacionada às plaquetas) ou leucocitárias (L-selectina, LFA-1). Estes mediadores promovem a adesão leucócitos-endotélio, que vai levar à disfunção da barreira endotelial. Ao menos

três eventos consecutivos podem ser claramente distinguidos na interação entre leucócitos e o endotélio em locais de inflamação ou dano tecidual (Beekhuizen & Van de Gevel, 1998).

A princípio, como decorrência do fluxo sanguíneo diminuído, há o rolamento dos leucócitos. As selectinas são as responsáveis por esta fase. Os leucócitos diminuem a sua velocidade e avançam dando voltas sobre si mesmos dentro da luz dos capilares. Na segunda fase ocorre adesão leucócito-endotélio e são as integrinas as responsáveis pela adesão inicial, a chamada adesão fina. A mais importante e mais bem estudada delas é a MAC-1. Elas se aderem especialmente ao ICAM-1, seus contrarreceptores, da família das imunoglobulinas, quando tem-se a adesão firme. Por fim, o leucócito aderido no endotélio pode migrar para o interior da célula, em um processo em que ele toma um formato amebóide para passar entre as células endoteliais (Beekhuizen & Van de Gevel, 1998). A Figura 3 resume o processo de adesão leucócito-endotelial. Para Kiuchi *et al*, 1997, face à fenestração dos sinusóides, o que o diferencia dos capilares, é difícil crer que um leucócito seja suficiente para obstruir o espaço sinusoidal. No entanto, os autores consideram que a agregação de vários leucócitos e outros elementos, como as plaquetas, podem efetivamente ocluir a luz sinusoidal.

Figura 3. Rolamento, adesão e migração leucocitárias na lesão tecidual.

Modificada de Beekhuizen & Van de Gevel, 1998.

As células de Kupffer (CK) são células do sistema monócito-fagócito localizadas nos sinusóides hepáticos e que perfazem 85% do total dos macrófagos corporais. Quando ativadas, influem na resposta inflamatória com a produção de citocinas (Crawford, 1999). Toda vez em que o indivíduo é exposto a choque hemorrágico, trauma, infecção grave ou outra situação que envolva o conceito amplo de isquemia e reperfusão há ativação destas células. As CK são a principal fonte de formação de oxirradicais e de interleucina 6 na reperfusão. Liberam ainda um importante mediador inflamatório, o fator de necrose tumoral ($TNF\alpha$). Estudos experimentais em modelos de isquemia/reperfusão demonstram que a inativação das CK com o uso de gadolínio confere proteção ao fígado no momento da reperfusão (Liu *et al*, 1995; Jaecshke, 1996; Akamatsu *et al*, 1999), embora os achados não sejam unânimes (Reinders *et al*, 1997; Yoo *et al*, 1998). Ao lado do mecanismo bioquímico descrito, as CK provocam também alterações mecânicas. Isto porque, uma vez ativadas, as CK modificam-se estruturalmente, com emissão de pseudópodes, podendo ocluir parcialmente a luz dos sinusóides.

A ativação das CK leva à produção de $TNF\alpha$, o que por sua vez a) aumenta a expressão das moléculas de adesão; b) produz substâncias vasoativas, como óxido nítrico, endotelinas, prostaglandinas e leucotrienos; c) produz interleucina 8, que leva à ativação dos polimorfonucleares; e d) induz a produção de citocinas pelo endotélio, como as interleucinas 1, 6 e 8. Esta produção elevada de $TNF\alpha$ age ainda sobre os linfócitos T, promovendo a produção de IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 e interferon (IFN) gama, mediadores envolvidos com o processo de reconhecimento de antígenos. Ademais, a congestão intestinal que ocorre com frequência durante o transplante hepático pode somar-se como uma outra fonte de produção de $TNF\alpha$ (Yoo *et al*, 1998).

Recentemente as plaquetas têm sido demonstradas como outro fator envolvido na lesão de isquemia/reperfusão. Se a ativação dos neutrófilos é essencial para o processo de diminuição da velocidade de fluxo, rolamento, adesão e oclusão vascular, as plaquetas também sofrem processo semelhante. Elas são ativadas precocemente e também passam a rolar dentro dos capilares.

Uma vez ativadas, produzem oxirradicais, tromboxane A₂ e leucotrienos, e atuam como um estímulo à ação dos neutrófilos. Ocorre agregação entre plaquetas e leucócitos, promovendo ainda maior dificuldade ao fluxo vascular. Se a interação endotélio-leucócitos é mais marcada nas vênulas pós-capilares, a interação entre plaquetas e endotélio dá-se em arteríolas e sinusóides. Em estudos experimentais, a administração de anticorpos anti-selectina P resulta em menor dano de isquemia/reperfusão (Paul & Kubes, 1995).

As conseqüências desta cascata de eventos associada à isquemia/reperfusão não são circunscritas ao fígado. Pelo contrário, as citocinas produzidas induzem uma resposta sistêmica, com lesões a distância e seus desdobramentos secundários em órgãos como os pulmões e os rins (Lentsch *et al*, 1999).

A abordagem dos fenômenos associados à isquemia/reperfusão contempla duas principais vias: a prevenção da formação de intermediários reativos de oxigênio através de fármacos que interfiram nas rotas metabólicas envolvidas e a eliminação desses agentes tóxicos imediatamente após a sua formação (Akimitsu *et al*, 1996; Arora & Gores, 1996; Rhoden *et al*, 1996; Ishida *et al*, 1997; Clavien, 1998; Uhlmann *et al*, 1998; Kondo *et al*, 1999; Almenara *et al*, 2000; Maggi *et al*, 2000; Net *et al*, 2000; Valentin *et al*, 2000).

A compreensão deste processo é essencial para o reconhecimento da importância das soluções de preservação. Uma boa solução de preservação de órgãos é aquela que tem a capacidade de atuar nos passos de geração de fenômenos tóxicos ao enxerto. A solução da Universidade de Wisconsin (UW) é a solução de preservação mais utilizada pelos grupos de TxH há mais de 10 anos, tendo substituído o uso da solução EuroCollins, então a mais empregada (Upadhyya & Strasberg, 2000). A sua síntese e introdução no mercado no final dos anos 80 é considerada um dos marcos da história do procedimento (Vera *et al*, 1993; Kahn, 1996; Cohen *et al*, 2000), uma vez que veio possibilitar uma isquemia a frio mais longa com menor lesão tecidual. Outras soluções têm sido sugeridas (Berlakovich *et al*, 2000), mas ainda não demonstraram sua vantagem em relação à UW. A composição da solução UW visa a reduzir os efeitos negativos da hipotermia, combatendo o edema celular intersticial e a acidose,

fornecer antioxidantes, inibindo intermediários reativos de oxigênio, e prover substrato para a repleção de ATP após a reperfusão (Southard & Belzer, 1996). Apesar deste desenho teórico, ela protege principalmente o enxerto contra os danos decorrentes da fase isquêmica, sendo menos protetora na reoxigenação (Kahn, 1996). Sua principal ação – e o que lhe faz superior em relação a outras soluções - parece ser a capacidade de proteção endotelial (Clavien, 1998). De fato, as células endoteliais dos sinusóides são o alvo inicial do dano de preservação (Natori *et al*, 1999). A Tabela 3 detalha o papel dos principais componentes da solução.

Tabela 3. Papel dos componentes da solução UW

<i>Componente</i>	<i>Atividade</i>
Lactobionato	Impermeabilizante (impede o edema celular)
	Quelante de cálcio (diminui o cálcio no citosol)
	Quelante de ferro (diminui o ferro no citosol)
Rafinose	Impermeabilizante (impede o edema celular)
Hidroxietilamido	Colóide (impede o edema celular)
Adenosina	Precursor da síntese de adenina-nucleotídeos
Glutationa	Remoção de radicais livres
Allopurinol	Inibição da xantina oxidase (reduz a produção de ânions superóxidos)
Magnésio	Cofator enzimático (transdução de energia)
Sódio e potássio	Agentes osmóticos
Dexametasona	Estabilizador de membrana
Fosfato	Efeito tampão

Modificada de Southard & Belzer, 1996

Os enxertos hepáticos são habitualmente perfundidos logo antes de sua revascularização de forma a remover eventuais bolhas de ar, a solução de

preservação, os debris e as citocinas acumuladas durante o processo de conservação a frio, bem como o grande conteúdo de potássio secundário ao uso da solução UW. De forma geral esta limpeza é realizada com Ringer-lactato (RL), mas alguns autores sugerem que seja feita com substâncias especialmente desenhadas para minimizar o dano de reperfusão (Sánchez-Urdazpal *et al*, 1993; Kahn, 1996). Menegaux *et al*, 1993, compararam o uso de sangue portal, colóide e RL nos resultados do transplante hepático em uma série de 155 pacientes cujos enxertos foram preservados em UW ou em solução de lactobionato sódico. Não encontraram diferença na sobrevida dos pacientes ou dos enxertos, mas nos casos em que a limpeza foi feita com sangue portal houve menor tempo operatório, menor necessidade de transfusão e menor permanência hospitalar pós-transplante. De qualquer forma, mais do que a escolha da solução usada para a perfusão do fígado, quer seja RL, sangue, cloreto de sódio ou ainda *Carolina Rinse*, importa que esta limpeza seja feita cuidadosamente.

Recentemente muito tem-se estudado acerca dos fatores associados à lesão de reperfusão. Aos mecanismos isquêmicos e oxidativos, fenômenos imunológicos têm sido agregados e o papel da lesão de reperfusão na gênese de rejeição tem sido discutido (Carrasco *et al*, 1996; Kiuchi *et al*, 1997; Mueller *et al*, 1997; Land, 1998a; Cohen *et al*, 2000). Viebahn *et al*, 1998, estudaram em 75 transplantes hepáticos consecutivos a influência da gravidade do dano de reperfusão na expressão de moléculas de adesão (MHC I, MHC II e ICAM-1) no tecido hepático e soro. O grau de lesão correlacionou-se positivamente com a presença de MHC e ICAM-1 no tecido hepático. Os níveis teciduais de ICAM-1 são marcadores do estímulo à adesão linfócito-célula apresentadora de antígenos, e condicionam o desencadeamento dos eventos que culminam na rejeição de órgãos sólidos. Manfro, 1994, analisando transplantados renais, descreveu expressão tecidual aumentada de ICAM-1 durante episódios de rejeição aguda. Shackleton, 1998, observa que o dano de preservação produz uma série de citocinas, moduladoras de efeitos imunotóxicos, e salienta que a intensidade da lesão de isquemia/reperfusão correlaciona-se com a magnitude da expressão das moléculas de adesão, citocinas e fatores de crescimento. Identicamente, é capaz de promover maior regeneração hepatocitária,

determinando a estimulação do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), irrompendo desta forma o processo de reconhecimento antigênico, com dano ao tecido transplantado. Não necessariamente a atividade MHC elevada leva à rejeição, mas ela detona o estímulo antigênico para a ativação das células T (Land, 1998b). Muñoz, 1997, salienta a importância das moléculas de adesão intercelular para que, após o reconhecimento antigênico, prossiga a cascata de eventos associadas à rejeição. A Figura 4 ilustra esta relação possível entre o dano de isquemia/reperfusão e o reconhecimento imunológico do enxerto.

Figura 4. A lesão de isquemia/reperfusão e sua possível influência na rejeição do enxerto

Modificada de Shackleton, 1998.

Em síntese, a isquemia hepática seguida pela reperfusão do órgão provoca um desbalanço entre os componentes vaso-regulatórios, como endotelina e óxido nítrico, gerando constrição do leito capilar e conseqüentes distúrbios microcirculatórios com redução do fluxo sanguíneo, hipóxia e dano tecidual. A deterioração da hemodinâmica hepática é a marca registrada da lesão de isquemia/reperfusão (Dunne *et al*, 1997; Klar *et al*, 1997).

Os fatores de risco relativos e absolutos relacionados à pior função do enxerto após o TxH estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Fatores de risco relativos e absolutos à má-evolução pós-transplante

	Fator de risco	
	Relativo	Absoluto
Isquemia a frio	> 12 h	≥ 30 h
Esteatose hepática	> 30%	> 60%
Idade	> 50 anos	Não
Isquemia a quente	> 90 min	> 150 min
Retransplante	Sim	Não
Estágio UNOS	Sim	Não
Insuficiência renal	Sim	Não

Modificada de Strasberg, 1997

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

O transplante hepático tem salvado vidas há muitos anos. Como todas as conquistas, é resultado de um grande investimento. Um investimento humano - receptor, família do doador e equipe médica -, mas também um investimento financeiro considerável por parte da sociedade. Investimento feito para salvar uma vida, fornecer uma nova chance a um único indivíduo. Os melhores resultados, se avalizam o procedimento, estão condicionando uma espera mais longa em listas para transplante. O tempo, para pessoas gravemente enfermas, com frequência é padraço – a mortalidade tem crescido exponencialmente. Isto tem feito com que enxertos de pior qualidade sejam aceitos para transplante como uma forma de reduzir o tempo de espera em lista.

A função do enxerto é o principal determinante das complicações pós-operatórias iniciais e de sua magnitude. Nos pacientes com NFPE é regra a falência de múltiplos órgãos. Nos casos em que há DPE especula-se que haja também repercussão sistêmica, em especial na função renal. A sobrevivência costuma ser influenciada pela função inicial do órgão transplantado. Outrossim, mesmo com enxertos de boa qualidade corre-se o risco de não haver atividade pós-transplante. Os enxertos marginais, por seu lado, podem condicionar uma função pós-operatória ainda pior. Contudo, face à escassez de órgãos, o seu uso é justificável. Ademais, enxertos muito ruins tendem a ser implantados em receptores igualmente em mau estado, o que contribui para multiplicar esse risco.

A lesão de preservação é a pedra fundamental na gênese de disfunção do órgão implantado. Ela reflete o dano secundário às condições prévias do doador e do receptor e ainda o ocorrido durante o transplante. Quanto mais pronunciada

a lesão, pior será a função do fígado no período pós-operatório imediato. As provas de função hepática estimam a extensão do dano, mas carecem de especificidade. Complicações vasculares, quadros infecciosos e rejeição podem alterá-las. O tempo de protrombina, por sua vez, é pouco útil no período pós-operatório imediato, em razão do uso de hemoderivados. A análise da histologia hepática após a reperfusão pode fornecer imediatamente dados para a quantificação do dano de preservação. Apreçar a gravidade do dano de preservação pode contribuir a uma melhor função do enxerto, posto que do diagnóstico medidas terapêuticas e/ou profiláticas podem ser tomadas no pós-operatório imediato, de modo a reduzir a incidência de complicações secundárias à grave disfunção do enxerto.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Avaliar a extensão do dano de preservação do enxerto através de análise anatomopatológica;

3.2. Correlacionar variáveis histológicas e bioquímicas na estimativa do dano de preservação do enxerto;

3.3. Avaliar a influência do dano de preservação na função inicial do enxerto hepático;

3.4. Avaliar a influência do dano de preservação na incidência de complicações clínicas e na sobrevida no período pós-transplante imediato.

4. PACIENTES E MÉTODOS

4. PACIENTES E MÉTODOS

4.1. Pacientes

Foi realizado um estudo transversal, com enfoque médico diagnóstico, eixo de montagem simultâneo, eixo temporal contemporâneo, eixo de intervenção observacional, eixo de comparação não controlado e eixo de unidade de pesquisa individual.

A amostra foi constituída por 55 indivíduos submetidos a transplante de fígado no HCPA entre os meses de setembro de 1996 e dezembro de 1999.

4.1.1. Critérios de inclusão

Procedeu-se a análise sistemática dos pacientes transplantados, incluindo-se consecutivamente indivíduos de ambos os sexos e maiores de 18 anos. Todos os indivíduos receberam órgão de doadores considerados de boa qualidade de acordo com critérios clínicos, bioquímicos e virológicos (Greig *et al*, 1990). Os órgãos foram preservados utilizando-se a técnica de congelação e a solução de preservação da Universidade de Wisconsin. Todos os pacientes receberam órgãos de doadores ABO idênticos.

4.2. Métodos

Todos os pacientes concluíram avaliação pré-transplante constituída de exames bioquímicos, hematológicos, imunológicos e culturais, bem como foram avaliados por equipe multidisciplinar composta por hepatologista, cirurgião, psiquiatra, cardiologista, pneumologista, anestesiolista, odontologista, enfermeiro e nutricionista, de acordo com o protocolo do Grupo de Transplante Hepático Adulto do HCPA (Anexo 1).

A categorização entre indivíduos cirróticos e não-cirróticos obedeceu aos critérios de padronização da nomenclatura das doenças hepatobiliares estabelecidos em publicação do *International Hepatology Informatics Group* (Leevy *et al*, 1994). Nos casos em que havia dúvida diagnóstica no período pré-transplante prevaleceram os achados histopatológicos do fígado explantado. Foram utilizados os critérios do CID 10 para a classificação do indivíduo como alcoolista.

A avaliação nutricional pré-transplante foi realizada através da avaliação nutricional subjetiva global -ANSG- (Anexo 2) e da aferição da força da mão não-dominante - FAM - através da dinamometria. A técnica utilizada para a determinação da FAM e os critérios de avaliação dos resultados foram demonstrados em publicação prévia do autor (Álvares-da-Silva & Silveira, 1998).

O preparo do paciente ao ser chamado para o transplante seguiu o protocolo do grupo, com jejum, tricotomia e colheita de exames laboratoriais. Todos os pacientes receberam antibioticoprofilaxia com cefoxitina e vancomicina na chegada ao bloco cirúrgico. As drogas foram mantidas até 72 horas após o transplante, com controle dos níveis séricos do macrolídeo.

Na chegada ao bloco cirúrgico os pacientes foram submetidos à instalação de catéter de Swan-Ganz, seguindo as rotinas do grupo (Anexo 2). Os pacientes foram operados por equipe cirúrgica única e seguidos pelo mesmos hepatologista e intensivistas no período pós-transplante.

A biópsia de congelação do fígado do doador foi realizada em fragmento obtido através de biópsia em cunha imediatamente após a sua chegada ao bloco cirúrgico. Foram feitos cortes com 4 μ de espessura, corados a seguir

pelo método de hematoxilina-eosina rápido. Os espécimes foram analisados pelo mesmo patologista.

As técnicas de anastomose da veia cava utilizadas pela equipe cirúrgica foram a clássica, a látero-lateral e a chamada “*piggy-back*” (Langnas & Howard, 1996).

Após a reperfusão do fígado foi obtida biópsia em cunha para posterior análise. Todas as biópsias foram fixadas em formalina a 10%, incluídas em parafina e coradas pelas técnicas de hematoxilina-eosina, Perls e picrossírius. Todos os espécimes anatomopatológicos foram analisados pelo mesmo patologista, cego para a presença ou não de complicações clínicas.

O esquema de imunossupressão empregado foi tríplice, composto de ciclosporina, corticóides e azatioprina. Os níveis sanguíneos de ciclosporina foram monitorados com o uso de anticorpos monoclonais, sempre no mesmo laboratório. As amostras eram coletadas pela manhã no período imediatamente anterior à administração da droga. As formulações de ciclosporina usadas foram a injetável e a micro-emulsão. Nos pacientes portadores de grave dano renal pré-transplante a ciclosporina foi substituída por OKT3 ou timoglobulina para a indução da imunossupressão.

4.3. Variáveis em estudo:

As seguintes variáveis foram estudadas:

- 1) características demográficas dos pacientes, como idade, sexo e raça;
- 2) características demográficas dos doadores;
- 3) causa da doença hepática;

- 4) estado nutricional pré-transplante, através da avaliação nutricional subjetiva global (Anexo 3) e da avaliação da função muscular pela dinamometria;
- 5) classificação de Child-Pugh – ver Anexo 4;
- 6) diabetes mérito pré-transplante, definida como glicemia em jejum acima de 127 mg/dl em duas dosagens em dias diferentes;
- 7) insuficiência renal pré-transplante, definida pelo nível sérico de creatinina acima de 2 mg/dl;
- 8) estágio UNOS (*United Network for Organ Sharing*), estimativa da urgência para a realização do transplante (Anexo 5);
- 9) dados relativos aos procedimentos de ablação do fígado do doador (Anexo 6);
- 10) tempo de isquemia a frio, definido como o tempo decorrido entre o clampeamento da aorta durante a retirada do enxerto até a sua remoção da solução de preservação gelada no momento do implante no receptor;
- 11) tempo de isquemia a quente, definido como o tempo transcorrido entre a implantação e a reperfusão do enxerto pelo sangue portal;
- 12) tempo cirúrgico;
- 13) tempo anestésico;
- 14) hemoderivados infundidos no transoperatório;
- 15) tipo de anastomose entre a veia cava do doador e do receptor;
- 16) tempo de permanência no Centro de Tratamento Intensivo (CTI) no período pós-transplante;
- 17) tempo de intubação orotraqueal;

- 18) insuficiência renal pós-transplante, definida pelo nível sérico de creatinina acima de 2 mg/dl ou elevação maior que duas vezes dos valores pré-operatórios nos pacientes com insuficiência renal prévia;
- 19) infecções bacterianas (neuroológicas, respiratórias, gastrointestinais, urinárias ou de ferida operatória);
- 20) biópsia de congelação do fígado do doador – avaliada conforme o protocolo descrito no Anexo 7;
- 21) biópsia de reperfusão - a lesão de preservação foi definida de acordo com critérios anatomopatológicos como a presença concomitante de neutrofilia sinusoidal e necrose hepatocelular, classificada em 3 diferentes estágios: 0 (ausente): biópsia sem evidência de neutrofilia em sinusóides ou necrose hepatocelular; 1 (leve): tecido hepático demonstrando neutrofilia sinusoidal associada a qualquer grau de necrose hepatocelular focal ou confluyente, com ou sem colestase leve ou balonamento de hepatócitos; 2 (moderada a grave): definida pela presença de necrose zonal ou a combinação de neutrofilia sinusoidal 2+ ou 3+, necrose hepatocelular confluyente ou focal, colestase canalicular ou hepatocitária e balonamento de hepatócitos. O protocolo de avaliação das biópsias de reperfusão está demonstrado no Anexo 8;
- 22) nível sanguíneo de ciclosporina;
- 23) reintervenção cirúrgica;
- 24) função do enxerto – a não-função primária do enxerto (NFPE) foi definida como a ausência de sinais de funcionamento do fígado transplantado (manutenção da encefalopatia, hipotermia, ausência de produção de bile nos pacientes com dreno de Kehr) associada à coagulopatia; má-função inicial (ou disfunção primária do enxerto - DPE) foi considerada presente nos pacientes com nível sérico de AST acima de 1500 UI/ml e fator V abaixo de 10% no primeiro dia pós-transplante;

25) índice de reperfusão – a lesão de preservação foi estimada por critérios bioquímicos através da fórmula: $rep = AST + ALT + LDH : 3$, onde os valores utilizados foram os máximos obtidos entre os dias 0 e 7 pós-TxH. A lesão de preservação foi graduada em leve ($rep < 1000$), moderada ($1000 < rep < 3000$) e grave ($rep > 3000$), conforme sugerido por Viebahn *et al*, 1998;

26) rejeição - os critérios diagnósticos de rejeição celular aguda foram a presença de infiltrado inflamatório linfocitário portal, dano ductular e/ou endotelite, de acordo com os critérios determinados na Conferência de Consenso realizada em Banff, Canadá (Demetris *et al*, 1997). No Anexo 9 está apresentado o protocolo de avaliação de rejeição;

27) mortalidade.

Todos os dados referentes ao pós-operatório foram avaliados em relação aos primeiros sete dias após o transplante. Os dados obtidos foram registrados em uma ficha individual (Anexo 10).

4.4. Logística do estudo:

O estudo foi delineado de modo a evoluir *pari passu* com o atendimento clínico dos pacientes adultos levados a transplante nesta instituição. Desta forma, a parte prática seguiu os seguintes passos após a indicação do transplante no indivíduo, com coleta de dados em cada um deles (ver Figura 5a):

- 1) Avaliação multidisciplinar pré-transplante;
- 2) Avaliação clínica e cirúrgica do doador;
- 3) Biópsia de congelação;
- 4) Transplante hepático;

- 5) Biópsia de reperfusão;
- 6) Evolução pós-operatória imediata (7 dias);
- 7) Seguimento clínico ambulatorial;
- 8) Análise codificada das biópsias de congelação e de reperfusão.

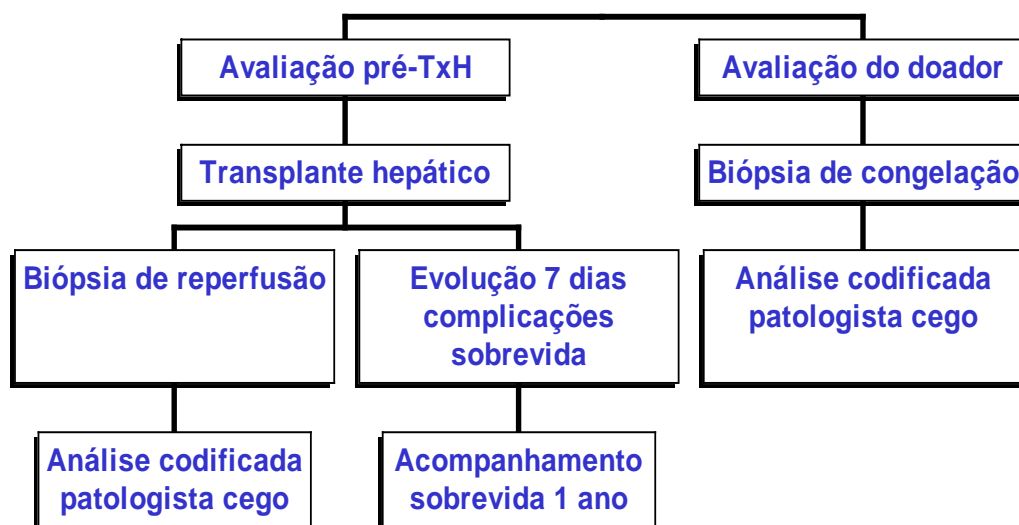


Figura 5a. Logística usada para a realização do estudo

4.5. Aspectos éticos:

Neste estudo foi realizada uma análise dos dados coletados durante procedimentos diagnósticos e terapêuticos relacionados à assistência clínica de pacientes, de acordo com rotinas do Grupo de Transplante Hepático Adulto do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os indivíduos incluídos, portanto, não assinaram consentimento informado. Todos os candidatos – e seus familiares - foram amplamente orientados durante o período de espera em lista para transplante, com informações acerca do tratamento proposto, seus riscos,

complicações e taxas de sucesso. Além do acompanhamento ambulatorial médico e de enfermagem, receberam orientação por escrito através de manual produzido com este propósito (Soares *et al*, 1999).

4.6. Análise Estatística:

Inicialmente os dados foram descritos utilizando-se medidas de tendência central e dispersão, incluindo média e desvio-padrão para as variáveis quantitativas e mediana e amplitude interquartil na presença de assimetria. As variáveis categóricas foram descritas através de percentuais.

As comparações de variáveis quantitativas realizadas entre os grupos (definidos por diversos critérios) foram feitas através do teste t de Student e pelo teste U de Mann-Whitney, na presença de assimetria. Quando estavam envolvidos 3 ou mais grupos foi utilizada a ANOVA, com localização de diferenças através do teste de Duncan.

Variáveis categóricas foram analisadas através do teste de χ^2 , com o uso de medidas de associação incluindo o risco relativo e seu intervalo de confiança. Adicionalmente utilizou-se o coeficiente de correlação para dados categóricos de Goodman-Kruskal (coeficiente gamma).

Para estudar a ocorrência de desfechos específicos, incluindo óbito, disfunção primária do enxerto e insuficiência renal aguda, e sua associação com potenciais fatores de risco selecionados, foi utilizada a técnica de regressão logística. Esta análise multivariável foi adotada para controlar possíveis efeitos de confusão entre as variáveis consideradas.

Adicionalmente foi aferida a validade do dano de preservação estimado por critérios anatomopatológicos em relação ao índice de reperfusão, através de medidas de desempenho diagnóstico, incluindo sensibilidade, especificidade e valores de predição, com seus respectivos intervalos de confiança.

O nível de significância adotado nas análises foi de $\alpha=0,05$. Os dados foram analisados e processados com o auxílio dos programas *Microsoft Excel* e *SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows*.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

Os resultados parciais deste estudo foram publicados na revista *Transplantation Proceedings*, em 1999 (Álvares-da-Silva *et al*, 1999). Ver Anexo 11.

5.1. Características demográficas dos pacientes estudados:

Foram estudados 55 pacientes, sendo 33 (60%) do sexo masculino e 22 (40%) do sexo feminino, com idade entre 18 e 65 anos. A média de idade foi de 46,3 anos (DP \pm 10,2). Em relação à raça, 42 indivíduos eram brancos (76,4%) e 13 (23,6%) pardos ou negros. Quando analisados em relação ao grupo sanguíneo, 29 pacientes (52,8%) eram do grupo O, 20 (36,4%) do grupo A, 4 (7,3%) B e 2 (3,6%) do grupo AB. Todos receberam fígados de doadores ABO idênticos. Não houve perdas durante o seguimento. Os pacientes ou ainda seguem consultando no Ambulatório de Transplante Hepático do HCPA ou foram acompanhados até o óbito.

A doença que motivou o transplante em 21 casos (38,2%) foi a cirrose secundária ao vírus da hepatite C (HCV), em 11 (20%) foi a cirrose determinada pela associação entre consumo crônico abusivo de álcool e infecção pelo HCV e em 7 pacientes (12,7%) a cirrose secundária ao álcool. Outras patologias foram o motivo de 16 transplantes (29,1%). A Figura 5b demonstra a causa das doenças de base.

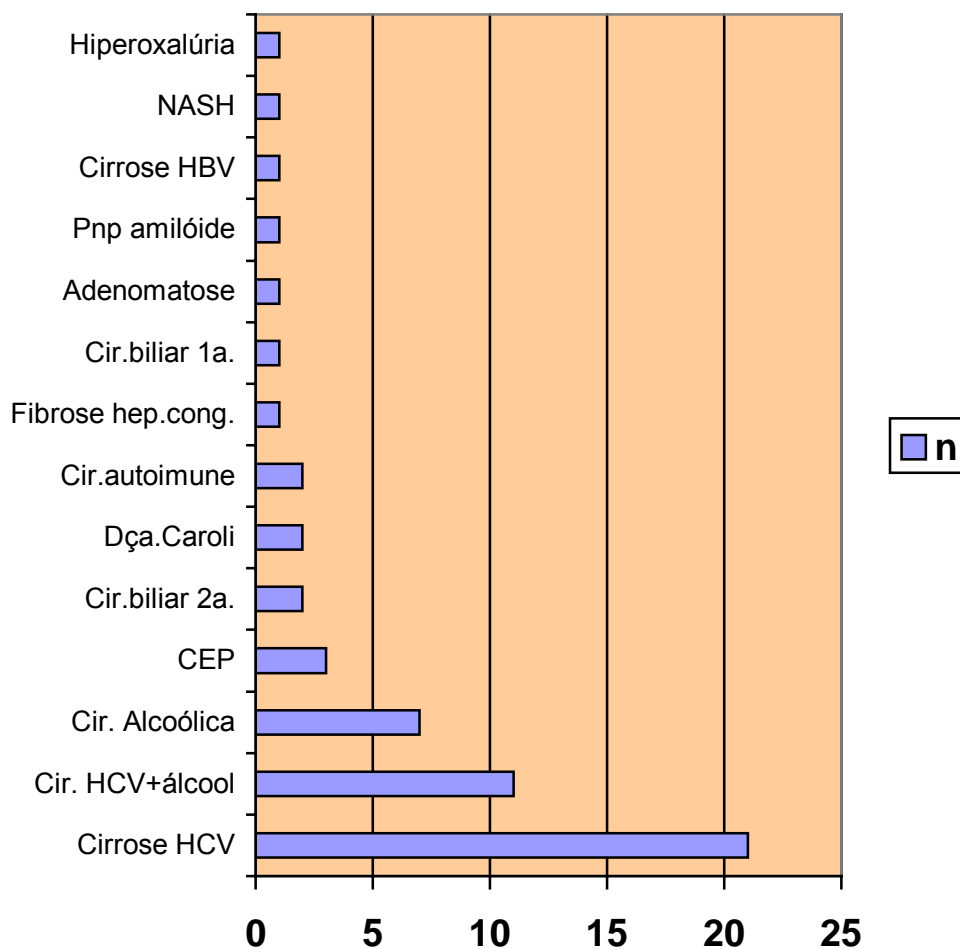


Figura 5b. Doenças responsáveis pela indicação de transplante hepático na amostra estudada.

Onde: NASH= esteato-hepatite não alcoólica; HBV= vírus da hepatite B; Pnp amilóide= polineuropatia amiloidótica familiar (Doença de Andrade); Cir.biliar 1ª= cirrose biliar primária; Fibrose hep. Cong.= fibrose hepática congênita; Cir. Autoimune= cirrose autoimune; CEP= colangite esclerosante primária; HCV= vírus da hepatite C.

Nos pacientes portadores de cirrose, 1 foi classificado como Child-Pugh A (2,04%), 18 (37,5%) como Child-Pugh B e 30 (62,5%) como Child-Pugh C.

Em relação ao estágio UNOS, 1 paciente (1,8%) era UNOS 2B e 54 (98,2%) UNOS 3.

Dentre os indivíduos estudados, 20 (36,4%) haviam sido submetidos previamente a cirurgias abdominais, sendo que em 2 (3,6%) esta cirurgia foi realizada para alívio da hipertensão portal. Apenas 1 paciente (1,8%) era portador de TIPS (derivação porto-sistêmica transjugular).

No período pré-transplante imediato 4 pacientes (7,3%) apresentavam critérios diagnósticos de insuficiência renal aguda.

Diabete mérito esteve presente em 4 indivíduos (7,3%) na fase de avaliação pré-transplante.

A aferição do estado nutricional através da avaliação nutricional subjetiva global (ANSG) demonstrou desnutrição em 32 indivíduos (58,2%). Quando o critério utilizado foi a dinamometria, 52 (100%) foram considerados desnutridos, sendo que em 3 o método não foi empregado.

5.2. Dados referentes aos doadores:

Em relação aos doadores, 35 (63,6%) eram do sexo masculino e 20 (36,4%) do sexo feminino, com média de idade de 32,6 anos (DP \pm 18,9).

No período em que se encontravam no Centro de Tratamento Intensivo (CTI) do local de ablação do órgão, 7 (12,7%) sofreram ao menos um episódio de parada cardiorrespiratória (PCR) revertida. Os 47 restantes (85,4%) chegaram à cirurgia para a retirada dos órgãos sem apresentarem PCR.

O uso de dopamina foi necessário em 42 (76,4%) dos doadores. Nos pacientes que receberam o fármaco, 16 (38,1%) o utilizaram em dose superior a 1g.

Quando aferida a AST dos doadores, 21 (38,2%) apresentaram nível sérico normal, enquanto que 12 (21,8%) tinham AST até 1,5 vezes o valor de referência de normalidade, 8 (14,5%) até 2 vezes, 10 (18,2%) até 3 vezes, 2 (3,6%) até 4 vezes e 1 (1,8%) acima de 4 vezes.

Em relação à dosagem sanguínea de ALT, 27 doadores (49,1%) estavam dentro dos limites normais, 13 (23,6%) exibiam valores até 1,5 vezes a referência, 3 (5,5%) até 2 vezes, 7 (12,7%) até 3 vezes, 1 (1,8%) até 4 vezes e 3 (5,5%) acima de 4 vezes. A Figura 6 resume os níveis séricos de aminotransferases dos doadores.

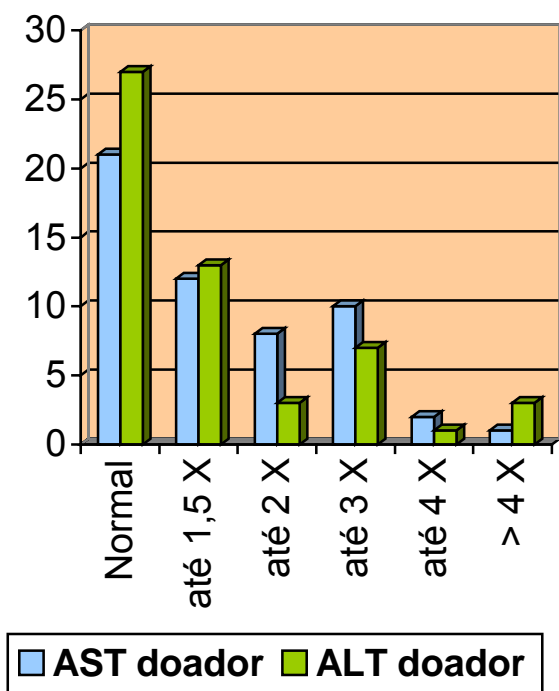


Figura 6. Comportamento das aminotransferases do doador no momento da ablação do enxerto.

Em razão de haver sido realizado um transplante intervivos, no que se refere à PCR, uso de dopamina e nível sérico de AST e ALT este doador (1,8%) foi excluído da análise.

Nenhum doador apresentava sorologia positiva para HBV, HCV ou HIV. Não foram excluídos doadores reagentes para CMV ou toxoplasmose. Em apenas um caso (TxH n° 5) foi implantado um enxerto proveniente de doador positivo para CMV em receptor negativo. Em outro paciente (TxH n° 4) o transplante foi realizado com enxerto de doador com imunofluorescência positiva para Doença de Chagas.

Durante a ablação 3 doadores (5,5%) apresentaram PCR transoperatória.

Os enxertos foram avaliados também através de biópsia de congelação no período imediatamente anterior ao transplante. Quando havia esteatose maciça não eram aproveitados. Isto ocorreu em 6 casos no período do estudo (*Cerski*, comunicação pessoal). Um outro enxerto foi desprezado por problemas técnicos (congelamento) durante o preparo do órgão na mesa refrigerada, de acordo com a avaliação subjetiva do cirurgião (*Waechter*, comunicação pessoal).

5.3. Dados referentes ao procedimento cirúrgico:

O transplante foi realizado em 53 pacientes (96,4%) com fígado inteiro. Em 2 pacientes (3,6%) foi implantado fígado reduzido.

O peso do fígado do doador foi em média 1546,9 gramas (DP \pm 367 g), variando entre 404 e 2368 gramas. Quando considerado o fígado do receptor, a média de peso foi de 1333,9 gramas (DP \pm 377,8g), variando entre 676 e 2420 gramas.

À ectoscopia realizada pelo cirurgião no momento da retirada do órgão o aspecto foi de fígado normal em 30 casos (54,5%). Em 20 (36,4%) pareceu ao cirurgião haver esteatose leve, enquanto que em apenas 1 (1,8%), esteatose

moderada. Em 03 transplantes esta impressão não foi adequadamente registrada e a mesma não foi considerada no transplante intervivos.

O tempo de isquemia a frio foi em média de 529,9 minutos (DP \pm 134,8), sendo o tempo mínimo de 230 e o máximo de 810 minutos.

A média do tempo de isquemia a quente foi de 55,4 minutos (DP \pm 15,3). O tempo mínimo foi de 33 e o máximo de 102 minutos.

A média de duração do ato cirúrgico em minutos foi 505,2 (DP \pm 140,7), com o tempo mínimo de 240 e máximo de 960 minutos. O tempo anestésico foi em média de 595,4 minutos (DP \pm 146,1), tendo variado entre 320 e 1080 minutos.

A anastomose caval foi realizada de acordo com técnica de preservação da veia cava em 44 pacientes (80%). Nos restantes 11 indivíduos (20%) foi empregada a técnica clássica.

Durante o procedimento os pacientes receberam em média 7,14 unidades de concentrado de hemácias (CHAD) (DP \pm 5,35). Dois pacientes (3,6%) não necessitaram receber CHAD durante a cirurgia. Em 1 indivíduo (1,8%), no entanto, foram utilizadas 28 unidades de CHAD.

Em média foram infundidas 8,94 unidades de plasma fresco durante a cirurgia (DP \pm 9,21). Não foi necessário o uso de plasma em 2 pacientes (3,6%). O número máximo aplicado foi de 48 unidades de plasma em 1 paciente.

Em relação a plaquetas, foi infundida a média de 14,6 unidades durante a cirurgia (DP \pm 14,2). Em 14 pacientes (25,5%) não foi necessária a infusão. O máximo utilizado foi de 63 unidades em 1 paciente.

O uso de crioprecipitado foi em média de 7,2 unidades (DP \pm 12,9). Vinte e oito indivíduos (50,9%) não receberam, mas houve 1 paciente que utilizou 71 unidades de crioprecipitado.

O sangue recuperado e reinfundido durante a cirurgia foi em média 2230,1 ml (DP \pm 1571,6), com intervalo compreendendo entre 250 e 6790 ml. Em quatro casos não houve registro.

Na Figura 7 estão representadas as médias de unidades de hemoderivados utilizados no período transoperatório.

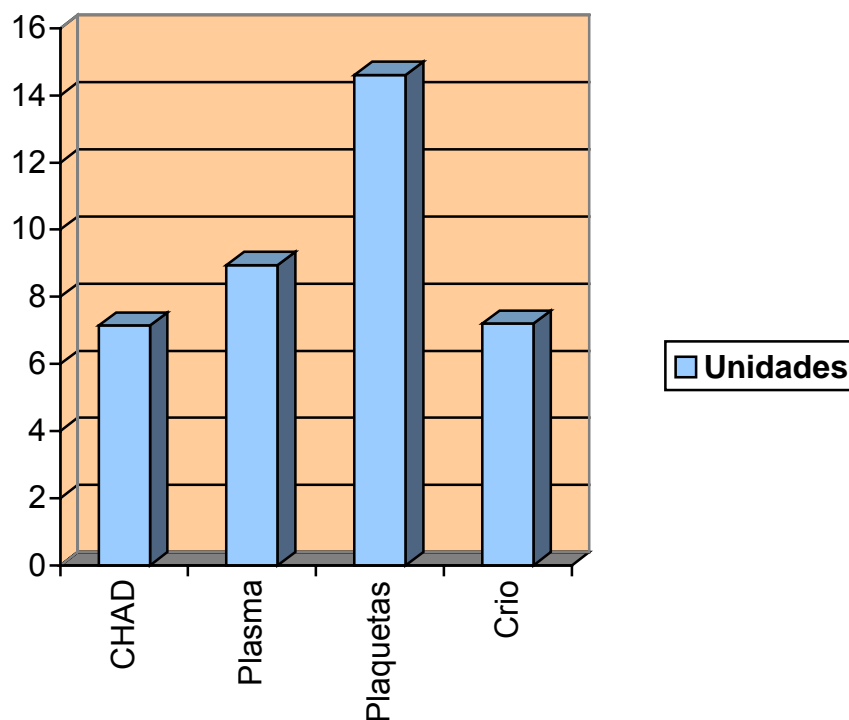


Figura 7. Hemoderivados utilizados durante o transplante hepático

Onde: CHAD= concentrado de hemácias; Crio= crioprecipitado

O aspecto do fígado na reperusão foi considerado normal pelo cirurgião em 48 pacientes (87,3%) e alterada em 6 indivíduos (10,9%). Em um caso não foi registrado o aspecto.

5.4. Dados referentes ao período pós-operatório:

A média do tempo de permanência em CTI foi de 8,77 dias (DP \pm 8,13). O tempo mínimo foi de 2 e o máximo de 49 dias. O tempo de intubação variou entre 0 e 8 dias, com média de 2,19 dias (DP \pm 1,98). O tempo total de internação após o TxH foi de 36,9 dias, variando entre 8 e 142 dias. Desta análise foram excluídos os pacientes que faleceram nos primeiros 7 dias.

Foram diagnosticados como portadores de DPE 11 pacientes (20%). Dois (3,6%) foram excluídos por óbito no período transoperatório e apenas 1 paciente (1,8%) apresentou critérios clínicos de não-função primária do enxerto.

A média da dosagem sérica de creatinina no primeiro pós-operatório foi de 1,38 mg/dl (DP \pm 0,68), com valores mínimo e máximo de 0,50 e 3,2 mg/dl, respectivamente. No sétimo pós-operatório o nível sérico médio foi de 1,81 mg/dl (DP \pm 1,29), variando entre 0,5 e 6,2 mg/dl.

Quando analisados em relação aos critérios diagnósticos de insuficiência renal aguda, a condição clínica pôde ser definida em 27 pacientes (49,1%), sendo que 16 (29,1%) necessitaram tratamento dialítico suplementar ainda na primeira semana pós-transplante.

Em relação a processos infecciosos associados, confirmados ou não por cultura, 47 indivíduos (85,5%) exibiram sinais de alguma infecção.

Sete pacientes (12,7%) apresentaram hemoperitônio nos primeiros 7 dias, todos eles tendo sido reintervidos. O total de pacientes levados à cirurgia na primeira semana pós-transplante foi 9 (16,4%). Nos dois casos restantes o motivo da nova cirurgia foi trombose portal em 1 paciente e pneumoperitônio em outro.

O comportamento dos valores médios de AST e ALT sanguíneas nos primeiros sete dias estão demonstrados na Figura 8. No primeiro pós-operatório, em relação à AST, a média foi de 1634,7 UI/ml (DP \pm 1910,4), com o valor mínimo 92 e máximo 10070 UI/ml. A ALT no primeiro dia foi em média de 867,6 UI/ml (DP \pm 772,8), variando entre 82 e 3562 UI/ml.

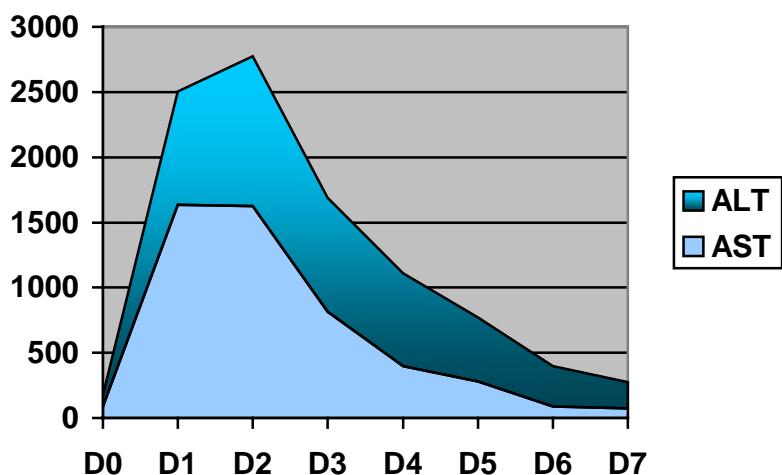


Figura 8. Evolução dos valores médios das aminotransferases na primeira semana pós-transplante.

O tempo de protrombina (TP) em porcentual de atividade foi em média 30,9 no primeiro dia pós-operatório ($DP \pm 14,1$), variando entre 14,1 e 73%. Quando analisados os níveis de fator V, o valor médio no dia 1 foi de 24,2% ($DP \pm 17,5$), sendo o mínimo 1,2% e o máximo 80%. A Figura 9 demonstra a variação do TP e do fator V na primeira semana.

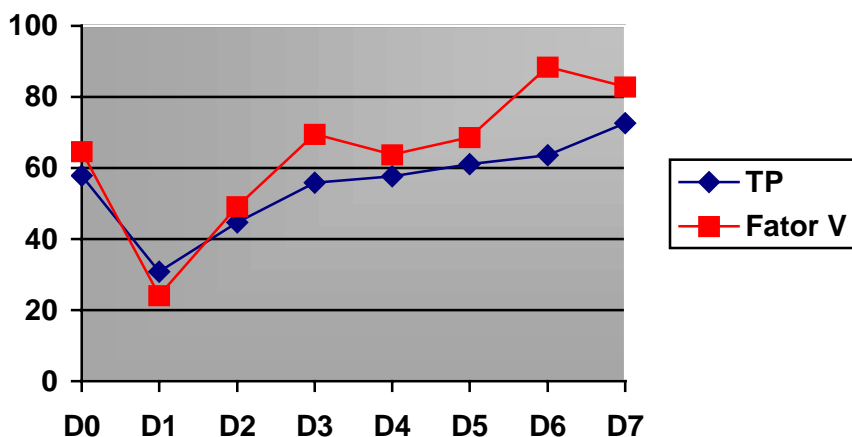


Figura 9. Evolução dos valores médios do tempo de protrombina e Fator V na primeira semana pós-transplante

O dano de preservação estimado por critérios bioquímicos foi dividido para fins de análise em duas classes, privilegiando ou variáveis categóricas ou numéricas. Quando o índice de reperfusão foi analisado em relação a categorias, 27 pacientes (49,1%) foram classificados como portadores de dano leve, 18 (32,7%) como dano moderado e apenas 8 (14,5%) como dano grave. A média do índice de reperfusão foi 1725,5 (DP \pm 1803,2), tendo sido o valor mínimo 277 e o máximo 7457,3. O índice foi menor que 500 em 12 pacientes (21,8%) e maior que 3500 em 7 indivíduos (12,7%). A Figura 10 resume estes achados.

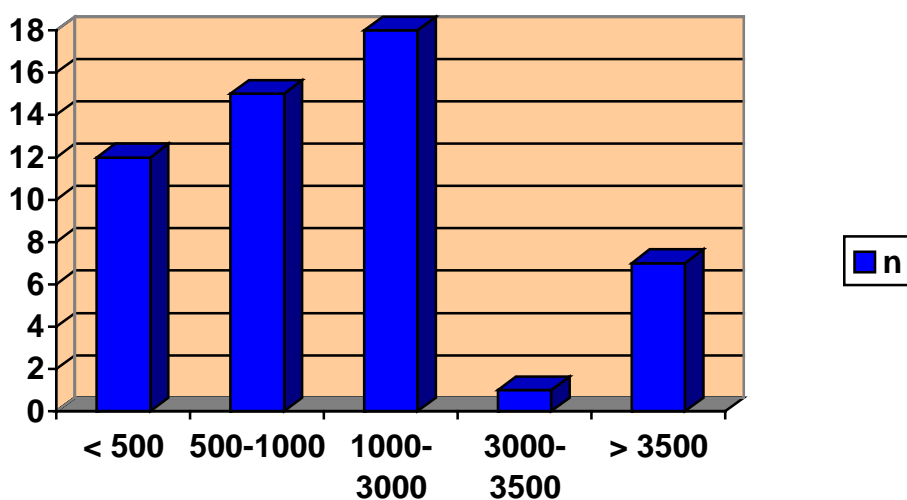


Figura 10. Distribuição dos indivíduos transplantados de acordo com o índice de reperfusão (REP).

REP = leve (até 1000); moderado (1000-3000); grave (>3000).

Em relação à mortalidade, 11 pacientes (20%) faleceram dentro do período de sete dias a contar do transplante, sendo 2 ainda no transoperatório, um por infarto agudo do miocárdio e outro por assistolia secundária à hipercalemia na reperfusão.

Apenas 1 (1,8%) paciente apresentou rejeição confirmada na primeira semana pós-transplante (TxH n° 5). Nos demais o quadro clínico não sugeriu a

possibilidade de rejeição. Não foram realizadas biópsias de rotina nesta primeira semana.

5.5. Dados anatomopatológicos:

5.5.1. Biópsia de congelação:

A análise por congelação do fígado do doador foi realizada em 48 transplantes (87,3%). Todas as amostras foram coradas em hematoxilina-eosina e 47 delas examinadas pré-transplante pelo mesmo patologista. Foram para os propósitos deste estudo codificadas e revisadas a seguir de maneira cega pelo patologista de acordo com o protocolo descrito anteriormente.

Esteatose hepatocitária esteve presente em 45 espécimes (81,8%). Em 35 casos foi classificada como grau 1 (63,6%), em 9 (16,4%) como grau 2 e em 1 caso (1,8%) como grau 4. Em todas as vezes a esteatose era predominantemente macrogoticular.

Infiltrado linfocitário portal leve foi descrito em 17 biópsias (30,9%), enquanto que necrose isquêmica perivenular discreta foi encontrada em 6 casos (10,9%).

Fibrose perivenular esteve presente em 14 biópsias (25,5%) e fibrose periductal foi descrita apenas em 1 caso (1,8%).

Colestase em zona 3 foi detectada em 5 ocasiões (9,1%).

Achados anatomopatológicos de fibrose em ponte, cirrose, granulomas ou neoplasia não estiveram presentes em nenhum caso. A Figura 11 resume os achados anatomopatológicos mais prevalentes.

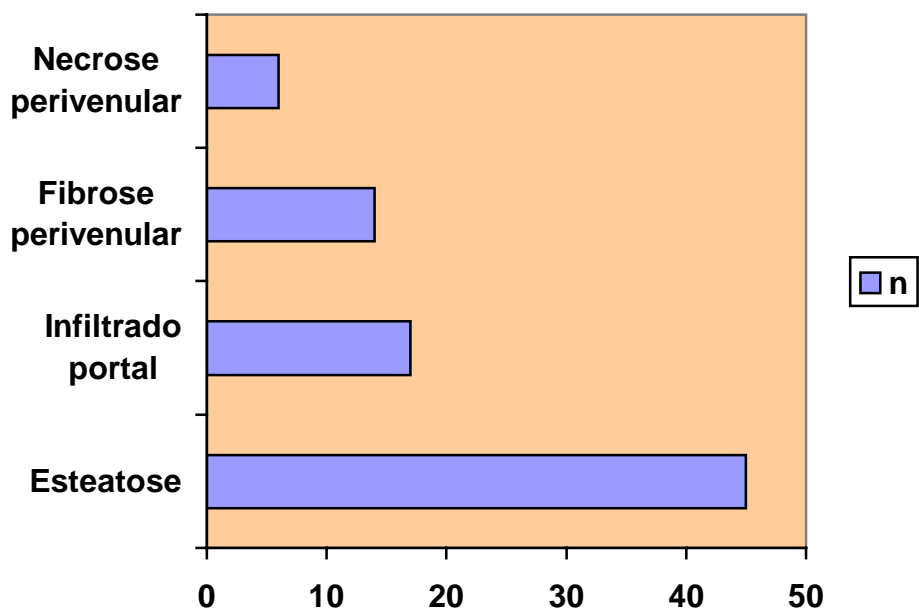


Figura 11. Achados mais comuns na análise das biópsias de congelação

5.5.2. Biópsia de reperfusão

A biópsia de reperfusão foi realizada em 52 pacientes (94,5%). Todas as amostras foram coradas em hematoxilina-eosina e examinadas para os propósitos deste estudo de maneira cega pelo mesmo patologista, conforme o protocolo descrito anteriormente. Em todos os espécimes analisados houve a presença de necrose hepatocelular em graus variados.

A localização da necrose hepatocitária foi dividida em salpicada, confluyente ou zonal. Considerou-se ainda a ocorrência de apoptose. Sempre que o indivíduo apresentasse achados sugestivos de necrose de um ou mais tipos para efeitos de classificação foi escolhida a categoria mais grave. Em 20 casos (36,4%) a necrose foi salpicada e em 16 (29,1%) confluyente. Necrose zonal esteve presente em outras 16 biópsias (29,1%). Nenhum paciente apresentou à análise de sua biópsia de reperfusão apoptose de maneira isolada. Quando havia necrose, em relação à extensão da mesma, em 39 casos (75%) apresentavam-se como raros focos em menos de 50% dos

lóbulos. Em 6 pacientes (10,9%) a necrose ocorreu em raros focos, mas em mais de 50% dos lóbulos, e em 7 (12,7%) houve a presença de numerosos focos necróticos.

Neutrofilia sinusoidal esteve presente em todas as biópsias analisadas. O infiltrado foi considerado leve em 39 casos (75%) e moderado em 13 (25%).

O achado de balonamento hepático foi positivo nas biópsias de 49 indivíduos. Foi considerado leve em 43 (82,7%), moderado em 5 (9,6%) e grave em 1 (1,9%).

Colestase foi detectada à análise da biópsia em 21 casos, sendo leve em 16 (30,8%), moderado em 4 (7,7%) e grave em 1 (1,9%).

Proliferação ductular somente foi demonstrada em 4 biópsias (7,7%), sempre leve. A hiperplasia de células de Kupffer ocorreu em apenas 3 casos (5,8%), igualmente leve.

Fibrose hepática portal e alterações consistentes com o diagnóstico de rejeição não estiveram presentes em nenhuma biópsia.

Quando analisadas em relação à esteatose, em 43 biópsias analisadas ela foi detectada (82,7%), em todas sob a forma predominantemente macrovesicular. Outrossim, foi considerada de grau 1 (< 33%) em 41 casos (78,8%) e de grau 2 (33 a 66%) em 2 (3,8%).

A Figura 12 resume os achados anátomo-patológicos mais prevalentes na biópsia de reperfusão.

O dano de preservação estimado pela interpretação dos achados anátomo-patológicos de acordo com o protocolo descrito anteriormente, foi leve em 32 indivíduos (61,5%) e moderado a grave em outros 20 pacientes (38,5%).

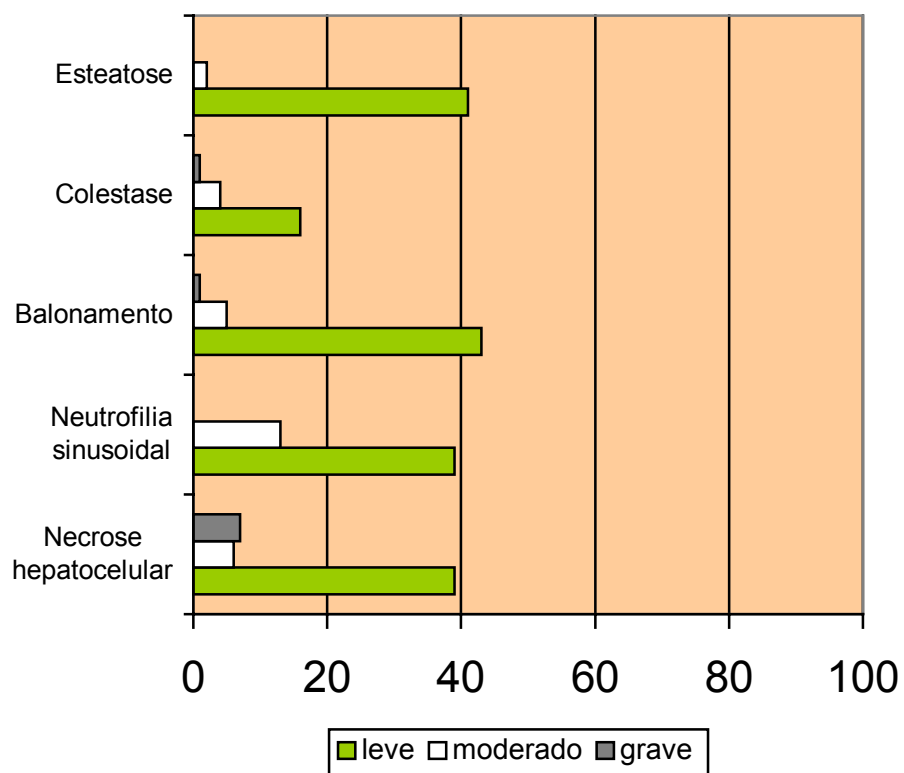


Figura 12. Achados mais comuns na análise das biópsias de reperfusão

As Figuras 13 a 22 demonstram alguns dos achados anatomopatológicos encontrados nas biópsias de congelação e de reperfusão.

Figura 13. Biópsia de congelação, hematoxilina-eosina (40x). Arquitetura hepática preservada, sem lesão isquêmica centrolobular. Espaços-porta limpos (setas).Esteatose discreta.

Figura 14. Biópsia de reperfusão (hematoxilina-eosina 40x) realizada no mesmo paciente da figura anterior, com intenso dano de preservação. Necrose pericentral importante (setas).

Figura 15. Biópsia de congelação, hematoxilina-eosina (100x). Nota-se o tecido hepático bem preservado. Espaço-porta (seta 1) e veia centrolobular (seta 2).

Figura 16. Biópsia de reperfusão do mesmo indivíduo. Áreas de necrose zonal (setas). Neutrofilia sinusoidal proeminente. Hematoxilina-eosina (100x).

Figura 17. Biópsia de congelação (picrossírius 400x). Fibrose perivenular (seta).

Figura 18. Biópsia de reperfusão com lesão de preservação leve. Neutrofilia sinusoidal discreta. Hematoxilina-eosina (100x).

Figura 19. Biópsia de reperfusão em paciente receptora de fígado reduzido (doador vivo). Nota-se a zona centrolobular íntegra, com colestase discreta (seta). Hematoxilina-eosina (400x).

Figura 20. Biópsia de congelação. Esteatose leve (seta 1). Infiltrado inflamatório portal (seta 2). Hematoxilina-eosina (100x).

Figura 21. Biópsia de reperfusão da mesma paciente com lesão importante. Necrose hepatocitária zonal e confluyente (seta 1). Infiltrado inflamatório evidente (seta 2). Hematoxilina-eosina (100x).

Figura 22. Reperfusão da mesma paciente, com vários hepatócitos em mitose (setas) - intensa regeneração hepática (hematoxilina-eosina 400x).

Nas Figuras 23 e 24 estão demonstradas as lesões encontradas na biópsia do único paciente que apresentou rejeição celular aguda no período pós-operatório inicial.

Figura 23. Biópsia hepática realizada no 6º dia pós-operatório demonstrando rejeição celular aguda moderada (seta). Hematoxilina-eosina (100x).

Figura 24. Biópsia hepática demonstrando rejeição celular aguda moderada. Presença de infiltrado inflamatório portal linfocitário moderado, com linfoblastos (seta 1), que expande o espaço-porta. Nota-se o dano ductular bem marcado (seta 2) e a presença de endotelite (seta 3) em vênula porta. Hematoxilina-eosina (400x).

5.6. Comparações:

5.6.1. Em relação a óbito:

Foi realizada a comparação entre óbito em 7 dias e dano de preservação estimado por critérios histológicos, bem como com a localização e a gravidade da necrose hepatocelular e neutrofilia sinusoidal. O índice de reperfusão estimado por critérios bioquímicos também foi comparado com a sobrevida nos primeiros 7 dias. Ver Tabela 5.

A comparação entre as médias do índice de reperfusão nos pacientes que evoluíram ou não a óbito está demonstrada na Tabela 6.

A média em minutos do tempo de isquemia a frio em pacientes que evoluíram ou não a óbito está descrita na Tabela 7. Nesta análise foram incluídos os dois pacientes que faleceram no transoperatório, pois em ambos o tempo de isquemia a frio pôde ser obtido.

Tabela 5. Análise dos fatores relacionados a óbito na primeira semana pós-transplante.

<i>Variável</i>	<i>Óbito n(%)</i>	<i>P (*)</i>
Dano de preservação		
Leve	5 (15,6)	
Moderado/Grave	3 (15)	0,95
Índice de reperfusão		
Leve	2 (7,4)	
Moderado	2 (11,1)	
Grave	5 (62,5)	0,002
Necrose (localização)		
Salpicada	4 (20)	
Confluente	2 (12,5)	
Zonal	2 (12,5)	0,52
Necrose (extensão)		
Raros focos < 50%	7 (17,9)	
Raros focos > 50%	0 (0)	
Numerosos focos	1 (14,3)	0,56
Neutrofilia sinusoidal		
Leve	7 (17,9)	
Moderada	1 (7,7)	0,38

(*) *Teste de Mantel-Haenszel*

Tabela 6. Índice médio de reperfusão e evolução a óbito.

<i>Óbito</i>	<i>N</i>	<i>Índice de reperfusão</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	44	1365,8	1446,6
Sim	9	3483,8	2386,8

Média de diferença: -2118,0 p (Mann-Whitney Wilcoxon): p=0,02; Tamanho de efeito: 1,11.

Tabela 7. Isquemia a frio e evolução a óbito.

<i>Óbito</i>	<i>N</i>	<i>Isquemia a frio</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	44	529,5	123,9
Sim	11	531,3	179,0

Média de diferença: - 1,75; Teste de Levene: p=0,15

A média em minutos do tempo de isquemia a quente nos pacientes que evoluíram ou não a óbito está apresentada na Tabela 8.

Tabela 8. Tempo de isquemia a quente e evolução a óbito

Óbito	N	Isquemia a quente	
		Média	Desvio-padrão
Não	44	55,0	15,1
Sim	11	57,1	16,6

Média de diferença: 2,04; Teste t de Student: 0,69.

Foi realizada regressão logística para avaliar os fatores independentes relacionados a óbito em 7 dias. As variáveis incluídas no modelo foram o dano de preservação, o índice de reperfusão, o tempo de isquemia a quente e as unidades de CHAD infundidas. Ver Tabela 9.

Tabela 9. Fatores de risco relacionados a óbito - regressão logística

Variável	Razão de chances	Intervalo de confiança (95%)	P
Dano de preservação	55020,92	0,00 – 1,65x10 ³⁸	0,91
Isquemia a quente	1,97	0,12 – 31,7	0,63
CHAD	1,16	0,10 – 13,5	0,91
Índice de reperfusão	7615869505,2	0,00 – 1,65x10 ³⁸	0,86

Onde: CHAD= concentrado de hemácias

5.6.2. Em relação à insuficiência renal aguda:

5.6.2.1. Pacientes que apresentaram insuficiência renal aguda:

Na Tabela 10 estão comparados IRA e dano de preservação estimado por critérios histológicos, a localização e a gravidade da necrose hepatocelular e a neutrofilia sinusoidal. O índice de reperfusão estimado por critérios bioquímicos também foi comparado com a sobrevida nos primeiros 7 dias e está demonstrado nesta tabela.

Tabela 10. Análise dos fatores associados à insuficiência renal aguda na primeira semana pós-transplante.

<i>Variável</i>	<i>IRA (n%)</i>	<i>P (*)</i>
Dano de preservação		
Leve	16 (50)	
Moderado/Grave	9 (47,4)	0,86
Índice de reperfusão		
Leve	12 (44,4)	
Moderado	8 (44,4)	
Grave	7 (87,5)	0,08
Necrose (localização)		
Salpicada	13 (65)	
Confluente	4 (25)	
Zonal	8 (53,3)	0,39
Necrose (extensão)		
Raros focos < 50%	21 (53,8)	
Raros focos > 50%	1 (16,7)	
Numerosos focos	3 (50)	0,46
Neutrofilia sinusoidal		
Leve	19 (50)	
Moderada	6 (46,2)	0,81

(*) *Teste de Mantel-Haenszel*. Obs.: a biópsia de reperfusão foi realizada em 52 pacientes.

A comparação entre as médias do índice de reperfusão nos pacientes que evoluíram ou não à insuficiência renal está demonstrada na Tabela 11.

Tabela 11. Insuficiência renal aguda nos primeiros sete dias e valores médios do índice de reperfusão.

<i>IRA em 7 dias</i>	<i>N*</i>	<i>Índice de reperfusão</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	26	1076,7	817,9
Sim	27	2350,2	2243,5

Onde: IRA = insuficiência renal aguda. Média de diferença: - 1273,6; $p < 0,0001$; Tamanho de efeito= 0,83.
*Perdas: óbitos no transoperatório : 2 pacientes.

A comparação entre as médias em minutos do tempo de isquemia a frio nos pacientes que desenvolveram ou não IRA está demonstrada na Tabela 12.

Tabela 12. Insuficiência renal aguda e tempos médios de isquemia a frio.

<i>IRA em 7 dias</i>	<i>N*</i>	<i>Isquemia a frio (min)</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	26	496,7	125,6
Sim	27	565,9	140,97

Onde: IRA = insuficiência renal aguda. Média de diferença: - 69,2 minutos; Teste t para igualdade entre médias: $p = 0,07$; Tamanho de efeito= 0,52. * Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

A comparação entre as médias em minutos do tempo de isquemia a quente nos pacientes que desenvolveram ou não IRA está demonstrada na Tabela 13.

Tabela 13. Insuficiência renal aguda e tempos médios de isquemia a quente

<i>IRA em 7 dias</i>	<i>N*</i>	<i>Isquemia a quente (min)</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	26	54,8	14,5
Sim	27	56,6	16,5

Onde: IRA = insuficiência renal aguda. Média de diferença: 1,86 min; Teste t para igualdade entre médias: p= 0,67.
*Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

Não houve diferença significativa entre o nível sanguíneo médio de ciclosporina nos pacientes com e sem IRA nos primeiros 7 dias. Nos pacientes que não apresentaram perda de função renal o nível médio de ciclosporinemia foi de 350,3 ng/ml (DP \pm 125,4), enquanto que nos que desenvolveram IRA pós-transplante foi 353,5 (DP \pm 267,9). Quando analisadas as médias do pico máximo de ciclosporinemia, naqueles sem IRA encontrou-se o valor de 575,8 ng/ml (DP \pm 409,4) e nos que apresentaram IRA, 546,7 (DP \pm 562,3), igualmente não houve diferença.

A influência do uso de hemoderivados na incidência de IRA pós-TxH está demonstrada na Tabela 14.

Tabela 14. Uso de hemoderivados (em unidades) no período transoperatório e evolução à insuficiência renal aguda nos primeiros sete dias

<i>Variável</i>	<i>N*</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>P</i>
CHAD (unidades)				
C/ IRA	27	8,56	6,43	
S/ IRA	26	6,0	3,73	0,08
Plasma (unidades)				
C/ IRA	27	10,8	11,4	
S/ IRA	26	7,46	6,11	0,19
Sangue recuperado (ml)				
C/ IRA	27	2610,9	1917	
S/ IRA	26	1953	1134,9	0,15

Onde: DP= desvio-padrão; IRA= insuficiência renal aguda; CHAD= concentrado de hemácias. * Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

Não houve diferença quando comparada a incidência de IRA em 7 dias nos pacientes com e sem IRA no período pré-transplante e nos pacientes que foram submetidos a procedimento com e sem preservação da veia cava, bem como nos pacientes que apresentavam ou não diagnóstico de DM no período pré-operatório. Também foi comparada a incidência de IRA com a etiologia da doença hepática. Ver Tabela 15.

Tabela 15. Comparação entre IRA pós-transplante e a presença de IRA pré-operatória, DM, tipo de anastomose caval e cirrose pelo vírus C

Fator de risco	IRA pós-transplante *		P **
	Sim n (%)	Não n (%)	
IRA pré-TxH			
Sim	3 (75%)	1 (25%)	
Não	24 (49%)	25 (51%)	0,32
Anastomose caval			
Clássica	7 (70%)	3 (30%)	
Preservação	20 (46,5%)	23 (53,5%)	0,18
DM pré-TxH			
Sim	1 (25%)	3 (75%)	
Não	25 (51%)	24 (49%)	0,32
HCV pré-TxH			
Sim	14 (46,7%)	16 (53,3%)	
Não	12 (52,2%)	11 (47,8%)	0,69

Onde: IRA= insuficiência renal aguda; DM= diabetes mélico; HCV pré-TxH = cirrose secundária à hepatite C ou hepatite C + álcool . * Perdas no transoperatório: 2 pacientes. * teste de Mantel-Haenszel

Foi realizada regressão logística para avaliar os fatores independentes relacionados a IRA em 7 dias. As variáveis incluídas no modelo foram o dano de

preservação, o índice de reperfusão, o tempo de isquemia a quente e as unidades de CHAD infundidas. Ver Tabela 16.

Tabela 16. Fatores de risco para insuficiência renal aguda- regressão logística

<i>Variável</i>	<i>Razão de chances</i>	<i>Intervalo de confiança (95%)</i>	<i>P</i>
Dano de preservação	1,8	0,48 – 6,70	0,38
Isquemia a quente	0,81	0,21 – 3,14	0,77
CHAD	0,82	0,24 – 2,82	0,75
Índice de reperfusão	12,6	1,14 – 138,6	0,04

Onde: CHAD= concentrado de hemácias.

5.6.2.2. Pacientes que apresentaram insuficiência renal aguda com necessidade de hemodiálise:

Os pacientes que submeteram-se à hemodiálise nos primeiros 7 dias têm seus achados resumidos em relação a dano de preservação estimado por critérios histológicos, localização e gravidade da necrose hepatocelular e neutrofilia sinusoidal na Tabela 17. O índice de reperfusão estimado por critérios bioquímicos foi comparado com a necessidade de hemodiálise nos primeiros 7 dias e igualmente está demonstrado nesta tabela.

Tabela 17. Análise dos fatores anatomopatológicos nos pacientes submetidos à hemodiálise na primeira semana pós-transplante.

<i>Variável *</i>	<i>HD (n%)</i>	<i>p **</i>
Dano de preservação		
Leve	9 (28,1)	
Moderado/Grave	6 (31,6)	0,79
Índice de reperfusão		
Leve	7 (25,9)	
Moderado	3 (16,7)	
Grave	6 (75)	0,05
Necrose (localização)		
Salpicada	7 (35)	
Confluente	3 (18,8)	
Zonal	5 (33,3)	0,84
Necrose (extensão)		
Raros focos < 50%	12 (30,8)	
Raros focos > 50%	1 (16,7)	
Numerosos focos	2 (33,3)	0,89
Neutrofilia sinusoidal		
Leve	12 (31,6)	
Moderada	3 (23,1)	0,56

* Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes. * *Teste de Mantel-Haenszel.*

A comparação entre as médias do índice de reperfusão nos pacientes que necessitaram ou não de tratamento dialítico está demonstrada na Tabela 18.

Tabela 18. Hemodiálise na primeira semana e valores médios do índice de reperfusão.

<i>HD em 7 dias</i>	<i>N*</i>	<i>Índice de reperfusão</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	37	1262,6	1172,9
Sim	16	2795,8	2493,8

Onde: HD = hemodiálise. Média de diferença: - 1533,2; $p < 0,0001$; Tamanho de efeito= 0,84. * Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

A comparação entre as médias em minutos do tempo de isquemia a frio nos pacientes que foram à hemodiálise ou não está demonstrada na Tabela 19.

Tabela 19. Hemodiálise na primeira semana e tempos médios de isquemia a frio.

<i>HD em 7 dias</i>	<i>N*</i>	<i>Isquemia a frio (min.)</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	37	529,1	139,8
Sim	16	538,5	134,0

Onde: HD = hemodiálise. Média de diferença: - 9,42; Teste t para igualdade entre médias: $p = 0,82$ * Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

A comparação entre as médias em minutos do tempo de isquemia a quente nos pacientes que foram à hemodiálise ou não está demonstrada na Tabela 20.

Tabela 20. Hemodiálise na primeira semana e tempos médios de isquemia a quente.

<i>HD em 7 dias</i>	<i>N*</i>	<i>Isquemia a frio (min.)</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	37	54,3	13,6
Sim	16	59,1	19,1

Onde: HD = hemodiálise. Média de diferença:4,79; teste t: 0,30. * Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

5.6.3. Em relação à disfunção inicial do enxerto:

A presença de disfunção do enxerto nos primeiros 7 dias foi comparada com a magnitude do dano de preservação aferida por critérios histológicos e bioquímicos, conforme está demonstrado na Tabela 21.

Tabela 21. Disfunção primária do enxerto e lesão de preservação.

<i>Variável *</i>	<i>DPE n(%)</i>	<i>p**</i>
Dano de preservação		
Leve	3 (9,4)	
Moderado/Grave	7 (36,8)	0,02
Índice de reperfusão		
Leve	3 (11,1)	
Moderado	2 (11,1)	
Grave	6 (75)	0,001

Onde: DPE= disfunção primária do enxerto. * Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes.

** *Teste de Mantel-Haenszel*

As médias do índice de reperfusão foram comparadas entre os indivíduos que apresentaram ou não DPE e estão relatadas na Tabela 22.

Tabela 22. Disfunção primária do enxerto e valores médios do índice de reperfusão.

<i>DPE</i>	<i>N*</i>	<i>Índice de reperfusão</i>	
		<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>
Não	42	1140,7	836,6
Sim	11	3958,1	2668

Onde: DPE= disfunção primária do enxerto. Média de diferença: - 2817,4; Teste t para igualdade entre médias: $p < 0,0001$; Tamanho de efeito= 1,61. * Perdas no transoperatório: 2 pacientes.

Foi realizada regressão logística para avaliar os fatores independentes relacionados à disfunção primária do enxerto. As variáveis incluídas no modelo foram o dano de preservação, o índice de reperfusão, o tempo de isquemia a quente e as unidades de CHAD infundidas. Ver Tabela 23.

Tabela 23. Fatores de risco para disfunção primária do enxerto- regressão logística

<i>Variável</i>	<i>Razão de chances</i>	<i>Intervalo de confiança (95%)</i>	<i>P</i>
Dano de preservação	6,98	0,89 – 55,0	0,06 *
Índice de reperfusão	55,3	3,54 – 864,1	0,004
Isquemia a quente	0,18	0,01 – 2,84	0,22
CHAD	1,75	0,23 – 13,1	0,58

Onde: CHAD= concentrado de hemácias. * Intervalo de confiança de 90%: 1,23 – 39,5.

5.6.4. Associação entre variáveis do doador e lesão de preservação:

Foi estimada a lesão de preservação de acordo com critérios bioquímicos e anatomopatológicos de acordo com características do doador, como sexo e PCR no período perioperatório.

Em relação ao sexo, foram considerados os indivíduos que receberam órgãos provenientes de doador do mesmo gênero ou de gênero diferentes e comparadas as duas categorias em relação à lesão de reperfusão. A Tabela 24 resume os dados.

Tabela 24. Comparação entre a lesão de preservação aferida por critérios anatomopatológicos (dano de preservação) ou bioquímicos (índice de reperfusão) e a concordância de gênero entre doador e receptor.

Categoria	Dano de preservação*		
	Leve (n)	Moderado/grave (n)	
Sexo D # Sexo R	12	10	
Sexo D = Sexo R	20	10	
	Índice de reperfusão **		
	Leve (n)	Moderado (n)	Grave (n)
Sexo D # Sexo R	11	7	5
Sexo D = Sexo R	16	11	3

Onde: Sexo D: sexo do doador; Sexo R: sexo do receptor. * Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes $p=0,38$; ** $p=0,39$.

Foi também verificada a influência da parada cardiorrespiratória sofrida pelo doador na gravidade da lesão de preservação. Tanto os doadores que apresentaram

PCR no período pré-transplante quanto os que a exibiram durante a retirada do órgão foram considerados em separado em relação aos efeitos medidos. A Tabela 25 demonstra os achados.

Tabela 25. Parada cardiorrespiratória (PCR) no doador e sua influência na lesão de preservação aferida por critérios anatomopatológicos (dano de preservação) ou bioquímicos (índice de reperfusão).

<i>PCR no doador</i>	<i>Dano de preservação*</i>		
	Leve (n)	Moderado/grave (n)	
Sim	6	2	
Não	26	18	
	<i>Índice de reperfusão **</i>		
	Leve (n)	Moderado (n)	Grave (n)
Sim	5	3	1
Não	22	15	7

Onde: PCR= parada cardiorrespiratória no doador antes ou durante o procedimento de ablação do órgão.

* Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes p= 0,39; ** p= 0,70.

5.6.5. Associação entre dados bioquímicos e histológicos em relação ao dano de preservação:

Foram comparados os resultados da avaliação do dano de preservação através do índice de reperfusão com aqueles obtidos da análise das variáveis anatomopatológicas. As variáveis anátomo-patológicas mais representativas de dano, quais sejam a localização e a extensão da necrose hepatocitária e a

intensidade da neutrofilia sinusoidal foram analisadas em separado em relação ao índice de reperfusão. A Tabela 26 resume os achados.

Tabela 26. Dano de preservação – variáveis anatomopatológicas e bioquímicas

Variável*	Índice de reperfusão			p **	Gamma
	Leve n(%)	Moderado n (%)	Grave n (%)		
Dano preservação					
Leve	19 (59,4)	10 (31,3)	3 (9,4)		
Moderado-grave	6 (31,6)	8 (42,1)	5 (26,3)	0,04	0,49
Localiz. Necrose					
Salpicada	9 (45)	9 (45)	2 (10)		
Confluente	9 (56,3)	5 (31,3)	2 (12,5)		
Zonal	7 (46,7)	4 (26,7)	4 (26,7)	0,59	0,06
Extensão necrose					
Raros focos < 50%	22 (56,4)	12 (30,8)	5 (12,8)		
Raros focos > 50%	2 (33,3)	3 (50)	1 (16,7)		
Numerosos focos	1 (16,7)	3 (50)	2 (33,3)	0,05	0,48
Neutr. Sinusoidal					
Leve	20 (52,6)	13 (34,2)	5 (13,2)		
Moderada	5 (38,5)	5 (38,5)	3 (23,1)	0,31	0,27

* Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes ** teste de Mantel-Haenszel

Foram comparados também o dano de preservação por critérios anátomo-patológicos com as médias obtidas pelo índice de reperfusão, conforme demonstrado na Tabela 27.

Tabela 27. Comparação entre as médias do índice de reperfusão de acordo com o dano de preservação anatomopatológico

<i>Dano de preservação *</i>	<i>Índice de reperfusão</i>		
	N	Média	Desvio-padrão
Leve	32	1254,5	1231,4
Moderado-grave	19	2641,7	2312,2

Média de diferença: - 1387,2; * Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes. Teste t para igualdade entre médias: $p=0,02$.

Foram calculados sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo para a análise histológica do dano de preservação, tomando-se como padrão o índice de reperfusão. Ver Tabela 28.

Tabela 28. Sensibilidade, especificidade e valores preditivos para o dano de preservação com intervalos de confiança * (95%)

<i>Dano de preservação **</i>	<i>Índice de reperfusão</i>	
	Moderado/grave	Leve
Moderado/grave	13	6
Leve	13	19

Sensibilidade= 50% (29,9 – 70,1%), Especificidade= 76% (54,9 – 90,6%), Valor preditivo positivo= 68,4% (43,5 – 87,4%), Valor preditivo negativo=59% (40,6 – 76,3%). * teste exato de Fisher. ** Biópsia de reperfusão realizada em 52 pacientes.

5.6.6. Análise da influência do dano de preservação na sobrevida

Foi calculada a sobrevida atuarial em 1 ano para os 55 indivíduos incluídos no estudo, de acordo com o dano de preservação aferido por critérios bioquímicos. A sobrevida variou de acordo com o índice de reperfusão (Tabela 29).

Tabela 29. Sobrevida atuarial em 1 ano de acordo com o índice de reperfusão:

Índice de reperfusão	N	Óbitos	Sobrevida atuarial em 1 ano
Leve	27	10	62,9 %
Moderado	18	10	44,4 %
Grave	8	6	25 %

Log rank= 0,003 (Leve vs moderado: p= 0,22; leve vs grave: p=0,001; moderado vs grave: p=0,03)

As curvas de sobrevida estão demonstradas nas figuras 25 e 26.

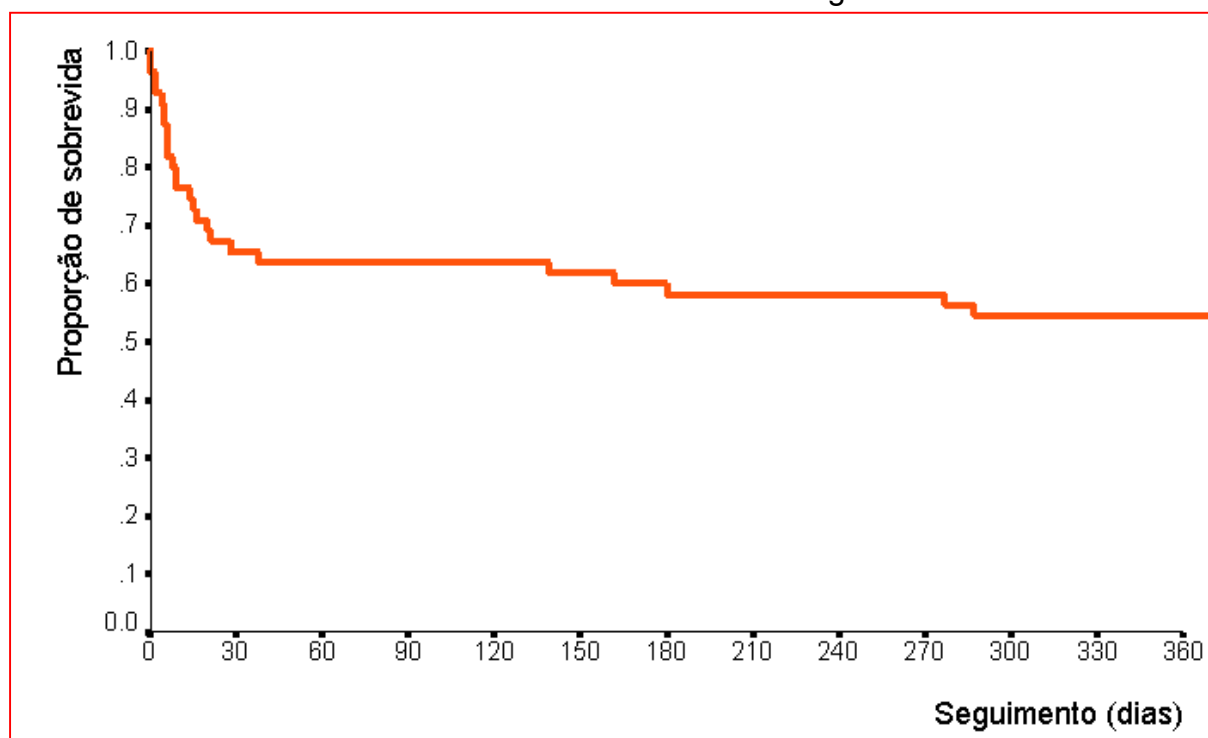


Figura 25. Curva de sobrevida atuarial em 1 ano dos pacientes estudados.

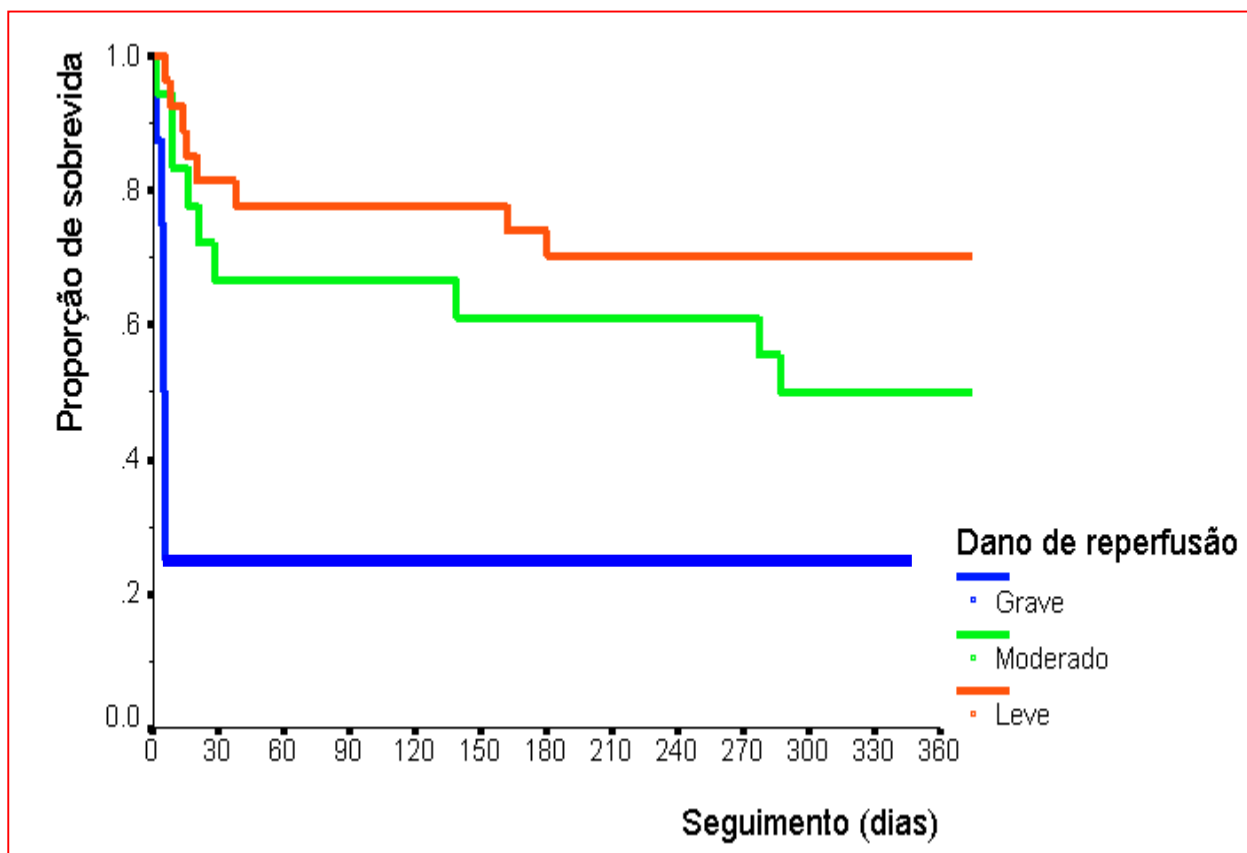


Figura 26. Curva atuarial de sobrevivida em 1 ano dos pacientes estudados, de acordo com o dano de preservação apresentado (Kaplan-Meier). Houve diferença significativa entre dano de preservação leve e grave ($p=0,001$) e moderado e grave ($p=0,03$).

6. DISCUSSÃO

6.1. A função do enxerto:

O TxH, embora um procedimento terapêutico bastante eficaz, não é isento de morbidade. Inúmeras complicações estão descritas. Elas podem ser categorizadas em a) complicações técnicas, aquelas decorrentes de problemas relacionados às anastomoses vasculares e biliar ou à preservação; b) infecciosas; c) imunológicas, a rejeição aguda ou crônica; d) médicas, como diabetes mérito, hipertensão arterial sistêmica e insuficiência renal; e) oncológicas; e f) complicações psiquiátricas (Trzepacz *et al*, 1993; Colonna, 1996; Colquhoun & Busuttil, 1996; Emmanouilides *et al*, 1996; Gholson *et al*, 1996; Steadman & Csete, 1996; Ludwig & Batts, 1996; Araya *et al*, 1997; Carson & Hunt, 1997; Neuberger, 1998). As complicações técnicas, a rejeição e as infecções oportunistas são as maiores causas de morte, retransplante ou morbidade significativa pós-TxH. Em torno de 80% dos pacientes apresentam episódios de rejeição aguda com imunossupressão convencional, 35% desenvolvem complicações técnicas e 40%, infecções oportunistas, em sua maioria virais. A importância das complicações técnicas é ilustrada por suas conseqüências, que costumam ser bastante graves, quer por determinarem ausência de função do enxerto, quer por levarem à redução do aporte nutricional ao fígado, com posterior necrose e sepse nos casos de complicações vasculares (Vera *et al*, 1993). As complicações do TxH estão resumidas na Tabela 30.

Tabela 30. Complicações pós-transplante hepático:

<i>Semana</i>	<i>Complicações</i>
1	NFPE / DPE Bilioma Insuficiência renal / Insuficiência respiratória Complicações neurológicas
1-4	Rejeição celular aguda Colestase Trombose de artéria hepática
5-12	Rejeição celular aguda Complicações biliares Trombose de artéria hepática HCV / CMV
12-26	Rejeição celular aguda Complicações biliares HBV / EBV Hepatite medicamentosa
> 26	Rejeição ductopênica / Trombose de veia porta CMV / EBV / Recorrência (HCV, HBV, tumores)

Onde: NFPE= não função primária do enxerto; DPE= disfunção primária do enxerto; CMV= citomegalovírus; EBV= Epstein-Barr vírus; Modificada de Sherlock & Dooley, 1997

A extensão da lesão de isquemia/reperfusão, por sua vez, tem como principal consequência expor o enxerto ao risco de mau funcionamento no período pós-operatório imediato, especialmente à não-função primária do enxerto (NFPE). De

fato, esta é uma complicação grave e temida, ocorre entre 6,9 a 8,5% dos enxertos (Strasberg, 1997) e pode ser definida como a insuficiência hepática imediata no período pós-operatório, com transaminases bastante elevadas, pouco ou nenhum débito biliar, coagulopatia, encefalopatia, hipoglicemia e instabilidade hemodinâmica (Petrowsky *et al*, 1995; Schaffer & Sorrell, 1996; Bzeizi *et al*, 1997). Os principais fatores de risco para NFPE são idade e presença de esteatose no fígado do doador e tempo prolongado de isquemia a frio (Strasberg, 1997). O diagnóstico anatomopatológico é baseado na presença concomitante de neutrofilia sinusoidal e necrose hepatocelular (Gaffey *et al*, 1997). Os hepatócitos tornam-se balonados com necrose focal ou zonal e há grau variável de esteatose. As células endoteliais dos sinusóides são afetadas, com vacuolização, lise mitocondrial e ruptura da membrana plasmática (Plevris *et al*, 1999).

A NFPE deve ser diferenciada da disfunção primária do enxerto (DPE) ou má-função inicial, que ocorre em aproximadamente 15% dos casos e costuma reverter com o tempo. Não existe, no entanto, uma definição clara para a DPE (Avolio *et al*, 1999). Strasberg, 1997, considera portadores de DPE aqueles pacientes que no primeiro pós-operatório apresentam AST superior a 1500 e tempo de protrombina maior que 20 segundos.

O único tratamento definitivo para a NFPE é o retransplante (D'Alessandro *et al*, 1993) e, de fato, esta é a principal indicação de retransplante nas primeiras duas semanas após o TxH (Plevris *et al*, 1999). O uso de drogas como o alprostadil (PGE1), que teria o potencial de promover uma melhora na função hepática, ainda não se demonstrou claramente efetivo (Henley *et al*, 1995; Sheiner, 1995; Takaya *et al*, 1995; Schafer & Sorrell, 1996; Klein *et al*, 1996). Shackleton, 1998, reforçando a teoria imunológica, considera que a maioria dos casos de NFPE com êxito letal deve-se à rejeição superimposta.

Não há disponível um teste capaz de prognosticar, analisando o doador, a ocorrência de NFPE no período pós-TxH. O teste ideal seria o que combinasse simplicidade e acurácia e pudesse ser aplicado em unidade de tratamento intensivo. Alguns têm sido estudados com resultados conflitantes. O teste do

metabolismo da lidocaína analisa a produção hepatocitária de monoetilglicínexilidida (MEGX) e é aferido 15 minutos após a injeção endovenosa da droga. Vários estudos analisaram sua utilidade para prever a evolução inicial do fígado, mas, embora promissor, não parece útil (Markin *et al*, 1993). Os testes da galactose e da cafeína também têm sido aplicados, mas não foram definitivamente referendados e não tomam parte da rotina clínica (D'Alessandro *et al*, 1993; Luft, 1997). O conteúdo de adenina-nucleotídeo no tecido hepático colhido no final do período de preservação a frio é uma forma interessante de prever a função do enxerto. No entanto, os poucos trabalhos descritos impedem um julgamento mais aprofundado. O índice corporal de cetonas arteriais (AKBR) mede o potencial redox das mitocôndrias hepáticas e correlaciona-se com a reserva energética do órgão. As amostras são retiradas logo antes da interrupção do suprimento sanguíneo ao fígado do doador. O AKBR necessita ser estudado em populações maiores para que possa ser demonstrada a sua utilidade. A avaliação objetiva do receptor quanto a modelos que estimem o risco de apresentar NFPE/DPE também ainda é motivo de estudos. Mais ainda, os fatores relacionados a DPE ainda não estão bem definidos, tanto que recentemente Avolio *et al*, 1999, ainda perguntam “de quem seria a culpa: do doador ou do receptor?”

Tem-se criado, portanto, um impasse. As complicações pós-transplante são freqüentes e potencialmente fatais. Mais ainda, no período pós-operatório inicial as lesões decorrentes de complicações técnicas, especialmente as que repercutem negativamente na função sintética do enxerto, são as que trazem maior risco de vida ao indivíduo, sobejamente ilustrado pelos casos que necessitam de retransplante nesta fase. Contudo, a identificação dos indivíduos sob maior risco de NFPE/DPE não é clara.

Todos os testes ora descritos assumem que o alvo da lesão de preservação é o hepatócito. Parece lógica, portanto, a análise da histologia hepática. No entanto, as lesões iniciam na intimidade da microcirculação hepática e podem não ser bem avaliadas no exame histológico, de modo que sua utilidade torna-se um pouco discutível (Markin *et al*, 1993). Após o TxH índices bioquímicos (Southard & Belzer, 1996), índices compostos considerando

parâmetros como ALT, débito biliar e tempo de protrombina (Bzeizi *et al*, 1997) ou ainda outros testes podem estimar o potencial de funcionamento do enxerto. Plevris *et al*, 1999, descreveram o uso do verde de indocianina nas primeiras 24 horas pós-TxH. Seria um bom indicador da função inicial do órgão, com correlação significativa com os achados histológicos pós-TxH e os níveis séricos de intermediários reativos de oxigênio e elastase neutrofílica, reconhecidos marcadores de dano de reperfusão. Mais uma vez retorna-se à repercussão histológica. Seria, no entanto, a avaliação do dano ocorrido no tecido hepático um marcador pouco sensível da lesão? Ou, de outra forma, uma vez detectado na microscopia, indicaria ele uma etapa seguinte da agressão à ultra-estrutura hepática?

6.2. Em relação ao desenho do estudo e definição das variáveis:

O estudo foi realizado com desenho transversal em relação especialmente ao dano de preservação, mas o delineamento assumiu características de um estudo longitudinal no que se refere a outros desfechos, como disfunção primária do enxerto, insuficiência renal, hemodiálise e óbito em 7 dias, uma vez que nestes casos houve nítida observação de sua ocorrência em um período de tempo. Nos estudos transversais questão fundamental é saber se a exposição precede ou segue o efeito aferido, de forma que as associações *a priori* não representam claramente uma relação de causa e efeito (Beaglehole *et al*, 1994), isto porque o desfecho e seus possíveis fatores de risco são medidos simultaneamente (Fletcher *et al*, 1996a). Porém, quando se sabe que um efeito segue-se obviamente a um outro, a análise dos resultados podem ser feitas da mesma maneira que para um estudo de coorte (Beaglehole *et al*, 1994). No estudo em tela, o desenho transversal foi utilizado para a análise do dano de preservação, tanto por variáveis bioquímicas como anatomopatológicas. Os fatores de risco pré e transoperatórios inegavelmente representam eventos anteriores ao dano do enxerto, portanto pode-se inferir uma associação causal entre eles.

Quando se analisa os desfechos nos primeiros 7 dias pós-transplante, no entanto, o estudo toma características de um estudo longitudinal, ou de coorte, uma vez que os indivíduos incluídos não haviam experimentado o desfecho de interesse (óbito, IRA, hemodiálise, infecção, disfunção primária do enxerto), mas poderiam nesta semana experimentá-los (Fletcher *et al*, 1996b). Optou-se pela análise de apenas 7 dias para evitar que outros fatores pudessem contribuir à piora do enxerto, como a rejeição, que costuma iniciar seu pico de incidência exatamente após a primeira semana de transplante (Sherlock & Dooley, 1997), e com isto houvesse adição de outros vícios de confusão. A análise da relação entre dano de preservação por variáveis anátomo-patológicas e os desfechos com o desenho proposto permitiu avaliar o efeito tanto de fator de risco quanto prognóstico na amostra estudada.

A abordagem utilizada neste estudo foi a análise sistemática dos 55 indivíduos transplantados no Grupo de Transplante Hepático Adulto do HCPA. Desta forma não foram previamente excluídos quaisquer indivíduos. Contudo, dois pacientes faleceram no período transoperatório e foram retirados da análise final.

O tratamento estatístico utilizado nas comparações privilegiou o estudo de variáveis que apresentassem correlação fisiopatológica potencial, evitando a tentativa de associação pura e simples entre inúmeras variáveis. Isto foi determinante para que o nível de significância adotado tenha sido fixado em 0,05, como sugerido pela escola estatística clássica de Neyman-Pearson (Wagner, 1998a). Na análise multivariável, para reduzir a probabilidade de erro alfa em função da estratificação da amostra para as múltiplas comparações (Rothman, 1986b), o nível de significância foi reduzido para 0,01.

A definição da doença hepática e de sua gravidade, bem como a detecção de consumo alcoólico excessivo foram conduzidas por critérios bem estruturados, de forma a minimizar o erro de classificação.

Em relação ao aspecto nutricional foram utilizados dois métodos e neste aspecto cabe um alerta: a avaliação nutricional em hepatopatas graves é reconhecidamente difícil, pois influenciada pela própria hepatopatia, pela função

renal e pela toxicidade do álcool, e carece de um padrão (Álvares-da-Silva, 1995; McCullough, 2000). A avaliação clínica através da ANSG é considerado um bom método, mais eficiente que critérios bioquímicos ou antropométricos nesta população, mas com o agravante de reconhecer a desnutrição em uma fase avançada (Baker *et al*, 1982). De fato, apenas 58,2% dos indivíduos avaliados pela ANSG foram considerados desnutridos pelo método, o que vai de encontro a outros estudos que relataram a prevalência de DPC em torno de 100% em pacientes em lista de espera para TxH (Marsano & McClain, 1991). McCullough, 2000, ainda recomenda que se considere que todos os candidatos a TxH sejam portadores de DPC. No estudo em discussão talvez a prevalência de DPC seja explicada pela presença de portadores de doenças com menor repercussão na síntese hepática como a fibrose hepática congênita, as doenças colestáticas do fígado e a adenomatose hepática. Quando o método empregado foi a dinamometria, que aferindo a força muscular pode detectar a desnutrição em uma fase mais precoce (Jeejeebhoy, 1988; Álvares-da-Silva & Silveira, 1997; Gibson, 1998), 100% foram considerados desnutridos. Os dois estudos mais detalhados em relação à prevalência de desnutrição em pacientes em lista de espera para TxH detectaram a presença de DPC moderada ou grave em 70 a 80% dos casos, sendo todos os outros desnutridos leves (Hasse *et al*, 1993; Harrison *et al*, 1997).

A definição de insuficiência renal aguda no período pré-operatório é certamente um ponto importante, uma vez que sua presença nesta fase é um fator de risco para a função dos rins após o procedimento. Optou-se por se considerar portador de IRA o indivíduo com creatinina sérica acima de 2 mg/dl. Pode-se argumentar que os pacientes em lista de espera para transplante hepático, muitos deles cirróticos, são desnutridos e, portanto, que níveis mais baixos de creatinina já poderiam ser indicadores de dano renal, o que é verdadeiro (Baker & Naraway, 2000). No entanto, a inclusão de pacientes não cirróticos no estudo, portanto menos sujeitos à DPC, determinou que o ponto de corte entre IRA e não-IRA pré-operatória fosse o adotado. Mesmo o fato de 100% deles terem sido considerados desnutridos pela dinamometria não invalida esta abordagem, pois o referido teste é mais sensível e detecta desnutrição

antes que ocorram alterações na composição corporal e seja iniciado o processo de catabolismo muscular na DPC (Gibson, 1998). Na IRA pós-transplante, entretanto, os níveis arbitrados parecem ser menos polêmicos. Ademais, são inferiores as taxas de sobrevida dos indivíduos que ao serem transplantados apresentam perda de função renal. Estes têm maior chance de evoluir a óbito no período imediatamente seguinte à cirurgia (Levy, 1998).

Os modelos de análise das biópsias de congelação e de reperfusão seguiram protocolos previamente publicados. O dano de preservação foi também estimado pelo índice de reperfusão. Esta abordagem foi adotada como uma tentativa de individualizar através de parâmetros bioquímicos o dano de reperfusão e a disfunção do enxerto. Isto porque um dos objetivos era justamente estimar a influência do dano de preservação no funcionamento do fígado no período pós-transplante.

A definição adotada para a disfunção do enxerto baseou-se nos níveis de AST e de fator V (pró-acelerina). A opção pelo fator V em detrimento do tempo de protrombina deveu-se ao fato do primeiro ser um indicador mais sensível de dano hepático e provavelmente menos dependente do uso de hemoderivados (Vix *et al*, 1996), muito embora a influência da transfusão de componentes sangüíneos na recuperação de ambos não esteja ainda bem documentada (Ratnoff, 1996).

No primeiro dia pós-transplante todos os pacientes foram submetidos a ultrassonografia com efeito doppler colorido para controle dos fluxos arterial e da veia porta. Esta conduta teve como objetivo reduzir as chances de indivíduos com trombose arterial ou portal serem erroneamente diagnosticados como portadores de dano de preservação mais grave, uma vez que em relação ao índice bioquímico de reperfusão haveria influência direta da perviedade vascular em sua magnitude. Nos pacientes com sinais ecográficos de fluxo reduzido foi realizada arteriografia seletiva hepática para confirmar o diagnóstico. Apenas em 1 indivíduo houve confirmação de trombose arterial, mas este paciente apresentava lesão hepatocitária extensa já na biópsia de reperfusão. A relação

entre dano de preservação mais grave e alterações isquêmicas pós-transplante, contudo, tem sido sugerida na literatura (Viebahn *et al*, 1998).

6.3. Em relação às características dos doadores:

Os doadores foram especialmente indivíduos do sexo masculino e a média de idade foi de 32,6 anos. Acidentes costumam ser a grande causa de morte cerebral na população doadora (McMaster & Vadeyar, 2000) e a população masculina jovem é estatisticamente mais propensa a isto. Ao redor de 85% deles não sofreram PCR no período imediatamente anterior à ablação e apenas 5,5% a apresentaram durante a cirurgia. O uso de dopamina foi necessário em mais de 75% dos doadores, mas apenas 2/5 deles receberam doses consideradas elevadas. Aminotransfêrases estiveram dentro dos valores de referência ou até 2 vezes o limite superior em aproximadamente 75% dos casos e nenhum doador apresentou sorologia positiva para HBV ou HCV. Estas características permitem estimar que a população doadora de órgãos para este estudo em média era boa, não tendo sido significativa a inclusão de doadores marginais. Muito embora a definição do que constitui um enxerto marginal varie entre os diferentes grupos e tenda a não ser uniforme em face ao conhecimento que aos poucos vai sendo agregado, a presença de esteatose hepática em mais de 60% dos hepatócitos ou a presença do doador em CTI por mais de 5 dias, hipotensão marcada por mais de 60 minutos não responsiva a drogas, a presença de PCR na retirada, o uso de dopamina em doses elevadas e ainda alcoolismo ativo e infecção sem controle são critérios habitualmente adotados para definir um enxerto marginal (Pruim *et al*, 1993; Melendez & Heaton, 1999). A presença de PCR tem sido discutida e até considerada benéfica, se curta. A possibilidade de curto período de hipóxia tecidual atuar como fator protetivo baseia-se no princípio do PCI. Apenas recentemente foi estudado de forma prospectiva o efeito da PCR do doador na função do enxerto pós-transplante em humanos. Analisando 181 transplantes realizados em Pittsburgh, Totsuka *et al*,

2000, concluíram que PCR breve não influenciou a qualidade e a sobrevida do enxerto pós-TxH.

No estudo em questão, além dos critérios usados, a análise da biópsia de congelação excluiu aqueles com esteatose importante, contribuindo para que a qualidade dos enxertos fosse efetivamente boa.

Frente à escassez de órgãos, a paridade de gênero entre o doador e o receptor não é um critério para alocação recomendado na literatura e, de fato, não foi utilizado neste estudo. Quando comparada a evolução dos pacientes em que o transplante envolveu indivíduos de sexos diferentes, não houve repercussão nos critérios estimativos de lesão de preservação, mesmo considerando a pequena amostra. Brooks *et al*, 1996, estudando 1138 transplantes realizados em 1010 indivíduos, em Dallas, Texas, concluíram que a sobrevida em 2 anos foi inferior nos receptores masculinos que receberam órgãos de mulheres, mas salientam que alterar a alocação baseado em seus dados é não só prematuro como impraticável.

6.4. Em relação às características dos receptores:

A amostra estudada foi de indivíduos adultos, com média de idade de 46,3 anos, em sua maioria caucasóides e portadores de cirrose associada ao vírus da hepatite C. De fato, os pacientes que desenvolvem graves complicações do HCV e, portanto, necessitam de transplante hepático, são indivíduos com tempo de evolução da doença mais longo (Colombo, 1999). Desta forma a idade não constituiu uma surpresa.

A etiologia viral C isolada foi responsável por 38,2% dos casos, em consoante com os estudos que sugerem ser o HCV a maior indicação de TxH em adultos no mundo ocidental (Baron *et al*, 2000; Molmenti & Klintmalm, 2000). A recorrência da infecção viral é a regra (Ludwig & Batts, 1996; Davern & Lake, 1998; Baron *et al*, 2000; Molmenti & Klintmalm, 2000), mas a sobrevida pós-

transplante não é inferior a dos transplantados por outras causas (Baron *et al*, 2000; Berenguer *et al*, 2000). No entanto, o HCV acomete o enxerto no período pós-TxH, sendo que em 1 ano 80% dos pacientes apresentam alterações compatíveis com hepatite crônica e 20% evoluem à cirrose em 5 anos, sendo que 5 a 10% dos pacientes transplantados pelo HCV apresentam doença grave o bastante para determinar a realização de retransplante (Baron *et al*, 2000; Molmenti & Klintmalm, 2000). De fato, o HCV é também a maior causa de retransplante atualmente. Considerando os pacientes que foram a transplante pela associação HCV e consumo alcoólico abusivo, o vírus C esteve relacionado a 58,2% dos indivíduos, acima do que é descrito na literatura, 30% das indicações (EASL, 1999; Baron *et al*, 2000). Mazzaferro *et al*, 2000, em razão deste quadro evolutivo ligado ao HCV pós-TxH, recentemente relataram o uso de interferon e ribavirina logo no período pós-operatório imediato, com bons resultados. Reduzir e/ou controlar a recidiva do vírus C após o transplante hepático representa um dos grandes desafios atuais aos estudiosos do fígado (Berenguer *et al*, 2000; Fasola *et al*, 2000; Salizzoni *et al*, 2000).

A cirrose relacionada isoladamente ao álcool constituiu indicação de transplante em 12,7% dos casos e, quando associada ao HCV, perfaz 32,7%. De resto, a experiência internacional não é muito diferente desta, pois a doença hepática alcoólica ainda é uma das grandes causas de TxH na população adulta, perfazendo em torno de 20% dos transplantes em adultos (Wiesner, 1996). Além do que a associação entre HCV e álcool é bastante comum. Estima-se que 25% dos pacientes acometidos por doença hepática alcoólica sejam também portadores de HCV (Koff & Dienstag, 1995).

As doenças colestáticas foram outra causa prevalente de indicação de transplante, estando presente em 6 casos. As doenças colestáticas do adulto, cirrose biliar primária e colangite esclerosante primária, são freqüentes indicações de transplante. Em torno de 20% dos transplantes em adultos são motivados por essas doenças, com resultados significativamente superiores aos dos pacientes transplantados por outras condições patológicas (Crippin, 1998). De fato, o TxH é altamente efetivo na cirrose biliar primária e na colangite esclerosante primária e, uma vez que nenhuma outra medida como

medicamentos, dieta ou intervenção endoscópica é capaz de impedir a progressão da doença – até mesmo o ácido ursodesoxicólico na cirrose biliar primária – ele torna-se assim o único tratamento definitivo para essas situações clínicas (Hay, 1998).

A doença de Caroli, situação em que há dilatação sacular segmentar das vias biliares, embora rara, foi responsável por dois casos. Frequentemente complicada por hepatolitíase, episódios de colangite, abscessos hepáticos e sepse, a doença de Caroli predispõe o indivíduo ao surgimento de colangiocarcinoma (Ishak & Sharp, 1996).

Nos Estados Unidos, a cirrose pelo HBV representa 7% das indicações de TxH (Colquhoun *et al*, 2000), mas no estudo em questão somente esteve relacionada a um indivíduo. A razão para isto é a recorrência universal do vírus no período pós-transplante, com graves conseqüências ao enxerto e prognóstico reservado (Kitay-Cohen *et al*, 2000; Perrillo *et al*, 2000), reduzindo a sobrevida a níveis inaceitáveis (Peters *et al*, 2000), somente sendo justificável o transplante quando tomadas medidas profiláticas para evitar a replicação viral. Até 1999 a recomendação na literatura era o uso de globulina hiperimune para o vírus B (HBIG) cujo custo é bastante alto, o que inviabilizava na prática o transplante nesta população especialmente frente a ausência de recursos públicos para a sua compra. Em 1999, no entanto, foi demonstrado que o uso de um análogo dos nucleosídeos, a lamivudina, é seguro e eficaz na profilaxia do HBV (Kitay-Cohen *et al*, 2000). Foi apenas então que foram incluídos em lista de espera pacientes portadores de HBV no nosso programa. Mais recentemente a profilaxia recomendada para a reinfecção pelo HBV tem sido a associação entre lamivudina e baixas doses de HBIG (Angus *et al*, 2000). Resta, contudo, outro dilema clínico: a emergência de cepas mutantes a longo prazo durante o tratamento. Isto tem levado a tentativas de associação entre HBIG, lamivudina e outros agentes antivirais, como famciclovir (Perrillo *et al*, 2000; Peters *et al*, 2000; Vierling *et al*, 2000).

Cabe salientar ainda na amostra estudada, pelo seu caráter inusitado, um transplante hepático realizado em paciente portadora de situs inversus

abdominal (Pereira-Lima *et al*, 2000) e o primeiro transplante hepático com doador vivo no estado do Rio Grande do Sul.

Os pacientes cirróticos em sua maioria foram classificados como Child-Pugh C, o que demonstra com clareza a gravidade de sua doença no momento do transplante. A sobrevida dos pacientes Child-Pugh C em 1 ano, sem a concorrência do transplante, encontra-se em torno de 50% (Wiesner, 1996; Lucey *et al*, 1997).

A presença de IRA foi detectada antes do transplante em uma pequena porcentagem dos pacientes. Talvez a sua frequência tenha sido subestimada pelos critérios utilizados em sua definição, muito embora o rigor no diagnóstico possa constituir um reforço na sua esperada associação como fator de risco para IRA pós-TxH. Baker & Naraway, 2000, sugerem que a presença de creatinina acima de 1,0 mg/dL no período pré-transplante confere 10 vezes mais chance de mortalidade e 17,5 vezes mais chance de IRA pós-transplante que nos indivíduos com creatinina inferior à unidade. Para Nuño *et al*, 1995, o desenvolvimento de IRA pós-TxH relaciona-se a uma mortalidade 7,8 vezes maior, podendo elevar-se até 15 vezes, se o indivíduo necessitar de hemodiálise.

Igualmente, diabetes mérito (DM) foi diagnosticado em poucos indivíduos. Os pacientes cirróticos via de regra apresentam graves alterações no metabolismo da glicose, com redução da glicogênese, aumento da glicogenólise, hiperinsulinemia e resistência periférica à insulina, o que pode levar à intolerância à glicose (McCullough, 2000). De fato, aproximadamente 80% dos pacientes com cirrose têm intolerância à glicose, mas apenas 10% deles apresentam diabetes mérito (McCullough, 1992), o que vai ao encontro do achado neste estudo. Navasa *et al*, 1996, estudando 102 pacientes, sendo que 14 diabéticos pré-transplante, concluíram que os riscos pós-operatórios não são maiores que nos indivíduos não diabéticos.

6.5. Em relação ao procedimento cirúrgico:

A amostra analisada foi constituída particularmente por pacientes que receberam transplante de fígado inteiro, cujo risco de mau funcionamento pós-operatório é menor que nos que recebem órgãos reduzidos (Strasberg, 1997). No nosso meio, Kieling *et al*, 2000, estudando 28 pacientes pediátricos submetidos a transplante, concluíram que os níveis séricos de bilirrubinas foram mais elevados e os de fator V significativamente inferiores nos pacientes que receberam fígado reduzido, muito embora não tenham demonstrado dados relativos à sobrevida.

A duração do ato cirúrgico variou consideravelmente e isto deve-se à complexidade diversa dos procedimentos de acordo com o indivíduo, bem como à experiência passo a passo adquirida pelos cirurgiões. A média de duração da cirurgia foi em torno de 500 minutos. Totsuka *et al*, 2000, relatando 202 transplantes consecutivos realizados entre maio de 1997 e julho de 1998 em Pittsburgh, descreveram o tempo operatório médio de 602,1 minutos, tendo variado entre 5 e 24 horas.

O tempo de isquemia a frio em média foi inferior a 12 horas. Baron *et al*, 2000, da Duke University, em Durham, descrevendo sua série de 62 transplantes em 56 pacientes, realizados entre 1994 e 1998, relataram tempo médio de isquemia a frio em torno de 11 horas. Acima deste período o risco ao enxerto aumenta, especialmente em relação aos ductos biliares, uma vez que a solução de preservação da Universidade de Wisconsin protege os hepatócitos do dano de preservação até em torno de 24 horas, mas não faz o mesmo com as células ductais (Kahn, 1996). Acima de 12 horas estas células passam a sofrer, tendo sido descritas tanto complicações biliares a longo prazo (Sanchez-Urdazpal *et al*, 1992; Petrowsky *et al*, 1995; Kahn, 1996), como maior incidência de NFPE ou DPE (Adam *et al*, 1992; Petrowsky *et al*, 1995; Kahn, 1996). O tempo máximo de isquemia a frio em nosso estudo foi de 13,5 horas, enquanto que chegou a 22 horas no de Baron *et al*, 2000. Vix *et al*, 1996, estudando 133 pacientes submetidos a transplante hepático, sugerem que o procedimento possa ser realizado eletivamente, em casos selecionados, a partir das 8 horas da manhã

quando o órgão for retirado após as 18 horas no dia anterior. Neste estudo o tempo médio de isquemia a frio foi de 13,7 horas. Klar *et al*, 1997, com o objetivo de definir o tempo máximo de isquemia a frio acima do qual a qualidade do enxerto seria definitivamente prejudicada, estudaram 45 pacientes submetidos a transplante na Universidade de Heidelberg. Demonstraram que enxertos submetidos à isquemia a frio por mais de 10 horas correlacionam-se significativamente a pior função pós-transplante. Salientam, entretanto, que a questão segue sem uma resposta definitiva.

Quando se analisa o tempo de isquemia a quente, vê-se que em média ele foi menor que 90 minutos. Sabe-se que acima deste período há potencial maior dano (Strasberg, 1997). A preservação e a reperfusão estão intimamente relacionadas à morte hepatocitária seguida de proliferação rápida (Selzner *et al*, 1999) e esta parece ser uma diferença importante entre o dano provocado pela isquemia a frio, especialmente direcionado a células endoteliais, e o dano da reperfusão, em que os hepatócitos tornam-se o alvo principal (Clavien *et al*, 1992). Recentemente, pela primeira vez foi associado o tempo de isquemia a quente à recidiva do HCV pós-transplante (Baron *et al*, 2000), relacionando a lesão de reperfusão a um maior estímulo à proliferação de hepatócitos e conseqüentemente maior replicação viral. Os autores relataram que o risco de HCV pós-transplante determinando lesão hepática de moderada a grave variou de 19% se o tempo de isquemia a quente foi de 30 minutos a 65%, nos casos em que o tempo estendeu-se até 90 minutos.

A anastomose caval foi realizada em 80% dos casos com preservação da veia cava, técnica que pode minimizar os efeitos deletérios da hipertensão esplâncnica sobre os rins. Quando ao transplantar-se com a técnica clássica descrita por Thomas Starzl a veia cava inferior é clampeada acima das veias renais na fase pré-anepática, a pressão venosa renal pode elevar-se e, em decorrência, induzir sofrimento renal, com diminuição da perfusão sanguínea e necrose tubular aguda (Wilkinson *et al*, 1996). Algumas técnicas cirúrgicas têm o propósito de evitar este dano. O uso de bomba venovenosa ou as técnicas de preservação da cava, como a anastomose cavo-caval látero-lateral ou a técnica

de *piggy-back* teoricamente prestam-se melhor à proteção da função renal pós-transplante (Xavier-Gonzalez *et al*, 1998; Navarro *et al*, 1999; Parrilla *et al*, 1999). A discussão sobre a pertinência das diferentes técnicas, entretanto, está longe de ser consenso entre os grupos de transplante (Langnas & Howard, 1996).

O uso de bomba venosa entre a veia femoral, sistema porta e veias subclávia ou axilar foi originalmente introduzido como um esforço para reduzir o sangramento transoperatório e a instabilidade hemodinâmica na fase anepática (Ozaki *et al*, 1994). Através dela o sangue é desviado da veia cava inferior e da veia porta chegando à circulação sistêmica. Langnas & Howard, 1996, consideram que o uso de bomba é tecnicamente mais simples que a preservação da veia cava inferior, mas sugerem que as equipes estejam aptas a utilizar qualquer uma das técnicas, pois sua aplicação pode ser necessária em um ou outro paciente. Ressaltam que as necessidades de volume são diversas. Enquanto que com o uso de bomba não há demanda por maior volume, nos casos em que se utiliza *piggyback* a reposição hídrica deve ser vigorosa. Howard, entretanto, discorda, argumentando que o uso da anastomose do tipo *piggyback* elimina os custos da bomba e seus riscos, como linfocelose e lesão do plexo braquial, sem acrescentar instabilidade hemodinâmica, maior sangramento ou influenciar no tempo cirúrgico (Howard, 1997).

Lerut *et al*, 1997, estudaram a influência da anastomose caval em 116 pacientes adultos submetidos a TxH entre janeiro de 1991 e junho de 1994. Avaliaram o tempo de implantação, o uso de produtos sangüíneos, a morbidade, incluindo IRA pós-transplante, e a evolução após a cirurgia em relação a três técnicas de anastomose. Em um grupo foi feita anastomose com o uso de bomba venosa, em outro anastomose tipo *piggy-back* e no terceiro anastomose caval látero-lateral. Concluíram que a anastomose látero-lateral apresenta os melhores resultados, com menor tempo de implantação do novo órgão, menos sangramento e menor taxa de reintervenção cirúrgica por sangramento abdominal. Klintmalm & Busuttil, 1996, por sua vez, descrevem o uso de bomba venosa como a técnica padrão. No presente estudo a bomba venovenosa não foi utilizada. Apesar da forma eleita para manter a circulação, isto demonstra a

preocupação em evitar a estase sanguínea renal, de forma a minimizar o impacto dos eventos intraoperatórios no desenvolvimento de IRA pós-cirúrgica (Wilkinson *et al*, 1996).

A análise, portanto, das características dos doadores e dos tempos operatórios parece indicar que os órgãos transplantados foram enxertos de boa qualidade e o procedimento cirúrgico foi conduzido em tempo hábil e de forma a promover menor risco de mau funcionamento do enxerto.

O uso de hemoderivados foi elevado, tanto em relação a CHAD quanto a plasma, plaquetas e crioprecipitado. Em torno de 7 unidades de CHAD foram infundidas em média por paciente, enquanto que na literatura o uso médio é de 5 unidades (De Wolf, 2000). A reposição foi guiada pelas necessidades clínicas e pelo tromboelastograma, realizado rotineiramente durante o procedimento. O tromboelastograma é uma técnica extremamente útil, de execução rápida no próprio bloco cirúrgico, e que permite monitorar a coagulabilidade sanguínea total, incluindo coagulação e fibrinólise (Kang, 2000). O TxH é uma cirurgia de grande porte em indivíduos bastante enfermos (Plevak & Findlay, 2000), em geral portadores de coagulopatia grave (Kang, 2000), com a peculiaridade de que há circulação colateral presente na parede abdominal e no peritônio, potencializando o risco de sangramento com o corte. Apenas 2 pacientes no estudo em questão não receberam CHAD. A infusão de sangue recuperado também foi elevada. O sangramento no período transoperatório foi no passado causa de elevada mortalidade durante o procedimento (Starzl, 1996b). A infusão de grandes quantidades de sangue pode estar relacionada a pior função renal no período pós-operatório, uma vez que indica maior perda sanguínea e conseqüente hipotensão (DeWolf, 2000). Recentemente foi descrita por Cancemi *et al*, 2000, uma análise retrospectiva de 1443 transplantes de fígado realizados na Baylor University, em Dallas, Texas. O grande volume transfusional, que os autores consideraram quando foram infundidas mais de 12 unidades de hemoderivados, relacionou-se significativamente a pior evolução pós-transplante. Para os autores a cirrose alcoólica, a presença de creatinina sérica igual ou maior que 2,5 mg/dl e hemoglobina igual ou menor que 10mg/dl foram fatores independentes determinantes de maior necessidade transfusional. Nestes

pacientes eles sugerem que o uso profilático de agentes antifibrinolíticos possa estar indicado.

6.6. Em relação ao período pós-operatório:

O tempo médio de permanência dos pacientes na CTI pode ser considerado elevado, reflexo de um grupo de transplante inicial, mas também de uma amostra de pacientes graves, uma vez que a maior parte dos indivíduos transplantados era de cirróticos Child-Pugh C.

Igualmente o tempo total de internação foi alto. Todos os pacientes transplantados entre 1996 e 1997 receberam ganciclovir IV como profilaxia de CMV. Como a profilaxia era iniciada vigésimo-primeiro dia pós-operatório, mesmo que o indivíduo apresentasse condições de alta, haveria de permanecer internado apenas para o uso da droga.

6.6.1. Em relação à insuficiência renal aguda

Quanto a complicações renais, presença de IRA no pós-operatório foi detectada em uma porcentagem bastante elevada. Em torno de metade dos pacientes apresentaram IRA. O tratamento dialítico foi necessário para controle do evento em 16 dos 27 pacientes. Ou seja, quase 30% dos indivíduos transplantados foram submetidos à hemodiálise, número bastante expressivo.

A presença de IRA pós-TxH não se relacionou à IRA pré-operatória. Este achado inusitado foi atribuído ao ponto de corte para o diagnóstico de déficit de função renal no período pré-transplante, que foi elevado, deixando escapar provavelmente pacientes com insuficiência renal. Houve um indivíduo que foi transplantado com diagnóstico de síndrome hepatorenal (SHR), situação clínica em que há diminuição da função e importantes alterações no fluxo sanguíneo

renal e na atividade de substâncias endógenas vasoativas na presença de doença hepática crônica com insuficiência hepatocelular e hipertensão portal avançadas. O paciente apresentava SHR tipo II, na qual a perda de função renal lenta e gradual na evolução da hepatopatia (Arroyo *et al*, 1996). Os pacientes que são transplantados com SHR em geral recuperam a função dos rins em um período de até 6 semanas. Somente em torno de 20% são submetidos à diálise pós-TxH (Wilkinson *et al*, 1996). De fato, o paciente voltou a apresentar diurese adequada logo no período transoperatório. No entanto, a seguir desenvolveu insuficiência renal associada à sepse, evoluindo a óbito na segunda semana pós-transplante.

Longe de determinar apenas uma doença hepática, o HCV provoca efetivamente uma doença sistêmica (Hadziyannis, 1997; Álvares-da-Silva *et al*, 2000). Dentre suas manifestações extra-hepáticas, a glomerulonefrite membranoproliferativa, associada ou não à crioglobulinemia essencial mista, é das mais frequentes e bem documentadas (Casato *et al*, 1991; Schirren *et al*, 1995). No entanto, os pacientes que foram transplantados por cirrose pelo HCV não apresentaram maior incidência de IRA no período pós-transplante que os demais. Da mesma forma, DM é uma causa importante de déficit de função renal – e há sugestões de que estaria associada também ao HCV (Allison *et al*, 1994). Contudo, o número de casos de DM pré-TxH foi tão pouco expressivo que não foi possível estimar a sua hipotética influência na função renal pós-transplante.

A preservação da veia cava durante a realização do transplante representa um potencial fator de proteção para os rins. Neste estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre a anastomose caval clássica e a realizada com preservação da veia no que se refere à IRA. No entanto, parece ter havido uma tendência a isto, representada pela grande incidência de IRA nos pacientes submetidos à anastomose clássica e demonstrada pelo $p=0,18$. Fora maior o número de pacientes operados sem preservação da veia cava e talvez esta tendência houvesse se confirmado.

O uso de hemoderivados foi superior nos pacientes que apresentaram IRA do que nos que não desenvolveram a complicação. O uso de CHAD e de plasma

fresco, bem como a quantidade de sangue recuperado reinfundida foi superior nos pacientes com IRA. No entanto a diferença não foi estatisticamente significativa, embora os valores de p encontrados estivessem abaixo de 0,20.

Wagner, 1998b chama a atenção para os aspectos da inferência estatística em medicina e salienta que a interpretação de dados de determinado estudo apenas de acordo com o rótulo “estatisticamente significativo” é potencialmente enganoso. Mais que isto, reforça que esta óptica tem sido constantemente criticada por vários estatísticos e epidemiologistas nos últimos anos. Desta forma, uma análise ortodoxa dos resultados deste estudo em relação ao desfecho IRA e fatores de risco estudados como o tipo de anastomose caval e a quantidade de produtos sanguíneos infundida, seria claramente favorável à inexistência de uma associação. Não parece lógico, contudo, desprezar os achados que sugerem que haja uma relação entre eles. Talvez se a amostra fosse maior estas associações teriam ficado mais claras.

A incidência de IRA correlacionou-se com a gravidade da lesão de preservação detectada pelo índice bioquímico. Quando analisada esta tendência de acordo com o índice de reperfusão em categorias, houve diagnóstico de IRA em 44,4% dos pacientes que apresentaram dano considerado leve, contra 87,5% dos que apresentaram dano grave. No entanto, o p encontrado foi de 0,08. Quando a análise foi feita utilizando-se o valor absoluto do índice, houve diferença estatisticamente significativa entre as médias obtidas pelos pacientes que apresentaram ou não IRA pós-transplante. O tamanho do efeito medido foi de 0,83, o que caracteriza o efeito aferido como de moderado a grande.

Quando aplicado modelo de regressão logística para a análise dos fatores relacionados à IRA no período pós-transplante, a lesão de preservação detectada pelo índice de reperfusão foi a variável que se correlacionou de forma independente com o risco de insuficiência renal, embora com $p > 0,01$.

Ademais, os pacientes que necessitaram tratamento dialítico apresentaram índice de reperfusão superior aos que apresentaram IRA sem necessidade de HD. Quando a comparação foi com a categoria do índice, houve evolução à

diálise em torno de 25% dos pacientes com índice leve e em torno de 75% dos com lesão grave, determinando $p=0,05$. A diferença mostrou-se estatisticamente significativa quando a comparação foi realizada com a média do índice, com tamanho de efeito 0,84, caracterizando um efeito de moderado a grande.

6.6.2. Em relação à disfunção do enxerto

A ausência de função do enxerto ou não-função primária do enxerto ocorreu em apenas um paciente (paciente n° 53), que faleceu no segundo pós-operatório sem ter demonstrado sinais de função hepática, com fator V de 1,2%. Já critérios para disfunção primária (DPE) estiveram presentes em 20% dos casos, similar ao descrito na literatura (Mueller *et al*, 1997). As curvas de comportamento das aminotransferases e de TP e fator V ilustram bem o ocorrido. Houve tendência à queda das primeiras e correção das provas de coagulação no decorrer dos primeiros 7 dias. No entanto há que se considerar nesta tendência o fator de confusão determinado pelas onze mortes (20%) ocorridas na primeira semana.

A presença de DPE correlacionou-se à estimativa da lesão de preservação tanto por critérios bioquímicos quanto anátomo-patológicos. Em relação ao índice bioquímico pode-se argumentar que este engloba a dosagem sérica de AST, um dos fatores considerados para a definição de DPE. Infelizmente a estimativa tanto da DPE quanto do índice de preservação não podem prescindir da avaliação da AST e há que se correr o risco do vício de confusão. Como o princípio da temporalidade é importante para a análise causa-efeito, este seria outro ponto negativo na associação entre DPE e índice de preservação. A média do índice de preservação, no entanto, foi estatisticamente superior nos indivíduos com DPE, com $p<0,001$, e o tamanho de efeito calculado foi de 1,61, o que caracteriza este efeito como grande a muito grande. Para Fletcher *et al*, 1996c, a força de uma associação, expressa por um risco relativo alto, é um indicativo de que realmente há relação causa-efeito. Mesmo que um viés possa levar a um risco relativo alto, isto é menos comum do que quando resulta em

risco relativo pequeno. No ponto em questão, a razão de chances, que em estudos de coorte tem significado análogo ao do risco relativo, foi bastante elevada, 55,3. De forma que parece adequado que se leve em consideração a associação encontrada. O dano de preservação estimado por variáveis anatomopatológicas, por sua vez, é uma estimativa independente dos fatores utilizados para o cálculo do índice. Os pacientes com DPE de fato apresentaram maior repercussão na análise histológica, o que reforça os achados bioquímicos. Embora com intervalo de confiança de 95% o risco tenha descido pouco abaixo da unidade, se considerado o intervalo de 90% o dano de preservação seria positivamente um fator de risco independente para a função inicial do enxerto.

6.6.3. Em relação à evolução a óbito

A mortalidade nos primeiros 7 dias foi bastante elevada (20%). Em outros grupos, mais experientes, o número de mortes no período inicial chega a ser tão baixo quanto 1,4% (Markin *et al*, 1993). Estes resultados certamente devem ser creditados à experiência inicial do grupo.

Houve relação entre a mortalidade e o índice de reperfusão, tanto em categorias quanto considerando-se as médias. O tamanho de efeito na comparação entre as médias do índice encontradas nos pacientes que evoluíram ou não a óbito foi de 1,11, caracterizando o efeito como de moderado a grande.

Foi realizada regressão logística para avaliar os fatores associados a óbito. Os achados, no entanto, são difíceis de valorizar. Embora a incidência de morte tenha sido elevada, uma limitação para o seu cálculo é o número total de pacientes estudados. Rothman, 1986 a, sugere que é ineficiente a realização de modelos de regressão logística em que se analisa tantos fatores que o número se torna demasiado para as observações realizadas. O autor considera que incluir variáveis em número superior a 20 ou 30% das observações feitas não é recomendável. Salienta ainda que o uso indiscriminado de variáveis em modelos de regressão logística mal estruturados e sem consistência conceitual tende

levar o investigador apenas ao benefício do acaso (Rothman, 1986b). Mesmo grupos com maior experiência incorrem neste erro (Bilbao et al, 1997). Como 11 pacientes morreram na primeira semana, um modelo com 2 ou 3 variáveis apenas poderia ser construído. O modelo realizado contou com 4 variáveis. Em função do número de pacientes analisados, os desvios foram tão grandes que os resultados não se tornam adequados. O mesmo autor ainda sugere que a análise estratificada limitada a variáveis-chave, é um antecedente sensível à análise multivariada (Rothman, 1986b). Cabe aqui que seja feita uma ressalva em relação ao modelo de regressão logística utilizado para estimar-se o risco de IRA. Como a frequência de IRA foi bastante superior a óbito, o modelo contou com um número de variáveis pequeno mas eficiente, possibilitando uma conclusão mais consistente.

A avaliação da sobrevida atuarial em 1 ano variou significativamente de acordo com o dano de preservação aferido pelo índice de reperfusão. Nos pacientes com dano leve a sobrevida foi de 62,9%, enquanto que nos pacientes com dano grave, 25%. A análise da curva de sobrevida, tanto geral quanto por gravidade da lesão de preservação, demonstra que as mortes foram mais frequentes nos primeiros 30 dias, com sua ocorrência estabilizando a seguir. Igualmente, o número de mortes nos pacientes com dano grave foi notável no período pós-transplante imediato. A sobrevida média em 1 ano tornou-se de 60% é inferior à descrita pela UNOS (81,7%), mas representa a experiência isolada de um grupo inicial ao contrário daquela (UNOS, 2000).

6.7. Em relação aos dados anatomopatológicos:

A função de um órgão pós-transplante é difícil de ser antevista. Neste sentido, a avaliação clínica e laboratorial são rotineiramente realizadas a fim de excluir os doadores de pior qualidade. Mesmo com estes cuidados não são poucos os enxertos que não apresentam função após o transplante, determinando que um novo órgão tenha de ser implantado em caráter de

urgência (Markin *et al*, 1993). Se em outros países com sistemas de captação de órgãos mais ágeis e eficientes um transplante de urgência ainda representa a delicada situação de uma verdadeira corrida contra o tempo, em nosso meio disponibilizar um segundo órgão pode beirar o utópico. De tal forma, o enxerto oferecido deve necessariamente ser da melhor qualidade possível, posto que provavelmente será o único – e é desejável que assim o seja. A análise da biópsia de congelação vai ao encontro deste objetivo: eliminar possíveis fatores não detectados por dados clínicos e laboratoriais e que possam comprometer a evolução do indivíduo. Ademais, a crescente utilização de doadores marginais torna ainda mais relevante a realização da biópsia pré-TxH (Kakizoe *et al*, 1990a). Um fator classicamente relacionado à disfunção do enxerto é a presença de esteatose macrovesicular maciça (Gaffey *et al*, 1997). Habitualmente estes doadores são excluídos (Markin *et al*, 1993; Kakizoe *et al*, 1990b), uma vez que após a reperusão ocorre uma síndrome associada à lise dos hepatócitos esteatóticos, com formação de grandes glóbulos extracelulares de gordura, alteração marcada na microcirculação hepática e áreas de necrose parenquimatosa focal. A esteatose microvesicular em geral não influencia na função do enxerto. Markin *et al*, 1993, na Universidade de Nebraska, realizaram talvez o estudo mais importante em relação à biópsia de congelação. Analisaram 385 doadores em que 27 (7%) foram excluídos. Os critérios usados para exclusão foram a presença de esteatose maciça (>45%), infiltrado inflamatório linfocitário determinando expansão portal, necrose isquêmica pericentral, fibrose periductular importante, inflamação granulomatosa, fibrose em ponte ou cirrose e sinais de doença maligna hepática. O principal achado do estudo foi a demonstração de que a presença de esteatose leve ou moderada não afeta a sobrevida dos pacientes em 1 ano. Miki *et al*, 1998, conduziram um outro estudo bastante interessante no qual aferiram o conteúdo hepático de triglicerídios em 29 transplantes em humanos. Quanto maiores os níveis de triglicerídios, mais evidentes foram os achados laboratoriais de lesão de preservação, como AST sérica e lactato. No estudo em discussão a presença de esteatose ocorreu em mais de 80% dos enxertos, na maioria dos casos de intensidade leve. Este achado esteve bem acima dos 13,2% encontrado por Markin *et al*, 1993, – e a causa disto é uma incógnita. Como a gordura rapidamente sai do tecido hepático

deixado aberto ao ar ambiente ou sobre papel toalha em questão de alguns minutos, é importante que a biópsia seja obtida imediatamente antes de sua análise, o que foi feito neste estudo, mas isto não fica claro no estudo de Nebraska. A presença de infiltrado inflamatório linfocitário portal, sempre leve, foi um outro achado relevante no estudo em tela. Este é um achado comumente descrito (Kakizoe *et al*, 1990b). Estes pacientes só devem ser aceitos sem receio se apresentarem marcadores virais negativos, especialmente em relação ao HCV. De resto, a permanência em CTI por dois ou três dias já é suficiente para desencadear este achado. Outro achado importante foi a presença de fibrose perivenular, que ocorreu em torno de 25% das biópsias e pode indicar uma sensibilidade maior ao álcool etílico. Outros achados anátomo-patológicos mais graves, como sinais de cirrose ou neoplasias não foram encontrados. De resto, isto não surpreende face à seleção prévia a que foram submetidos os doadores e também à análise do aspecto do fígado empreendida pelo cirurgião na retirada do órgão. Para Demetris, da Universidade de Pittsburgh, deveria o próprio patologista, analisando o fígado macroscopicamente, definir o local para ser realizada a biópsia em cunha, de forma a ampliar a capacidade diagnóstica do procedimento.

Os achados da biópsia de congelação refletem o dano provocado pela ausência de fluxo no tecido e é notável que esta lesão não seja tão proeminente. De fato, as lesões necróticas hepatocitárias foram bem pouco importantes na amostra estudada. Necrose perivenular esteve presente em torno de 10% dos casos. Estes achados são semelhantes aos do interessante estudo de Gaffey *et al*, 1997, em que, analisando 25 biópsias de congelação, os autores encontraram evidências de dano isquêmico em apenas dois enxertos (8%). Isto reforça a idéia de que é a reintrodução do fluxo sanguíneo o principal fator relacionado à lesão de preservação e deixa claro que a lesão decorrente da isquemia a frio é direcionada menos aos hepatócitos do que às células sinusoidais (endoteliais) (Gaffey *et al*, 1997; Jaeschke, 1996). Estudos experimentais demonstram à microscopia eletrônica que os hepatócitos pouco sofrem com a congelação, enquanto que as células endoteliais apresentam alterações degenerativas, como edema, picnose e separação dos hepatócitos adjacentes (Gaffey *et al*, 1997;

McKeon *et al*, 1988). Tanto que uma das estratégias para a prevenção do dano endotelial é a geração de uma isquemia aeróbica via persuflação do órgão com oxigênio. Proposta pela primeira vez no início dos anos 70, tem sido reavaliada com os novos conhecimentos acerca da lesão de isquemia/reperfusão. Efetivamente, parece que os enxertos assim tratados têm maior potencial de energia ao final da fase isquêmica do que os não tratados e sofreriam menor dano oxidativo posterior (Minor & Isselhard, 1995; Minor *et al*, 1997a; Minor *et al*, 1997b). Isto poderia vir a justificar o uso de oxigênio hiperbárico em transplantes (Mazariegos *et al*, 1999) ou ainda a proposta de arterialização precoce do enxerto, antes de ser realizada a anastomose portal (As *et al*, 1999).

Ao contrário da biópsia de congelação, as alterações presentes na biópsia realizada logo após a reperfusão foram bem marcadas. Isto era tão evidente que, apenas ao olhar rapidamente ao microscópio uma das lâminas do estudo, era possível afirmar sem incorrer em erro se a biópsia codificada era uma ou outra.

A análise da biópsia de reperfusão seguiu o mesmo modelo estruturado por Gaffey *et al*, 1997, publicado na revista *Hepatology*. Este modelo privilegia a ocorrência de dois principais fatores para estimar a lesão de reperfusão à microscopia óptica em lâminas coradas com hematoxilina-eosina: a presença de necrose hepatocelular e de neutrofilia sinusoidal. Embora haja estudos sinalizando que estas alterações são pouco frequentes (Bao *et al*, 1996; Regueira *et al*, 1997; Angelescu *et al*, 1999), esta não foi a experiência neste estudo e tampouco naquele. Outros estudos também demonstram correlação entre isquemia/reperfusão e lesão histológica (Takada *et al*, 1998; Tillery *et al*, 1989; Kakizoe *et al*, 1990a; Kakizoe *et al*, 1990b). Na lesão de reperfusão, que apresenta componente de isquemia a quente associado, as lesões de fato costumam atingir mais os hepatócitos que os sinusóides (Gaffey *et al*, 1997). Necrose hepatocelular esteve presente em todas as biópsias analisadas no estudo em questão, embora em quase 75% dos casos tenha sido classificada como leve. Em 30% dos casos houve a presença de necrose zonal. Quando aferida a extensão da necrose, somente em pouco mais de 10% das biópsias ela foi considerada grave. Neutrofilia sinusoidal também foi um achado universal na amostra estudada, embora leve em $\frac{3}{4}$ das vezes. Gaffey *et al*, 1997, estudando

69 biópsias de reperfusão, notaram a ocorrência de necrose hepatocelular e neutrofilia sinusoidal em 48 delas (70%). Infelizmente, no entanto, não apresentaram seus resultados anatomopatológicos de forma detalhada. É notável que a lesão de preservação tenha sido encontrada em tamanho número de casos no presente estudo. Embora Jaeschke, 1996, sugira que apenas 4 a 5 horas após a reperfusão haja aderência dos neutrófilos à parede dos sinusóides e posterior extravasamento e dano às células parenquimatosas, as biópsias foram realizadas logo após a reperfusão, com resultados expressivos. A mesma técnica, com biópsia logo após a reperfusão, foi a utilizada por Gaffey *et al*, 1997.

Ao ser estimada a lesão de reperfusão através da análise histológica, em torno de 60% dos casos ela foi considerada leve. Nos casos restantes ela foi classificada como moderada-grave. No estudo de Gaffey *et al*, 1997, 15/69 (21,7%) foram classificados como leve e 27/69 (39,1%) como moderada-grave, enquanto que em 15/69 (21,7%) não foi encontrada lesão. Nota-se que as lesões no estudo em tela foram mais evidentes. No único transplante intervivos realizado, a lesão de preservação foi leve. Minamiguchi *et al*, 1999, relataram sua experiência em 304 transplantes intervivos, demonstrando que a lesão de preservação neste grupo foi rara e, quando presente, leve. Este dado reforça a importância da lesão de pré-preservação na gênese do posterior dano de isquemia/reperfusão.

O dano de preservação estimado pela histologia correlacionou-se com o índice bioquímico de preservação. Quanto maior o índice, pior foi a lesão histológica. Embora não haja um teste que definitivamente diagnostique a disfunção inicial do enxerto, o valor máximo de AST e/ou ALT, tanto o inicial quanto o encontrado nas primeiras 72 horas ou na primeira semana, comumente é utilizado em estudos como reflexo da lesão de preservação (Gaffey *et al*, 1997). Como esta elevação pode ocorrer por uma série de eventos patológicos, como rejeição e complicações vasculares, sua exata natureza não fica a princípio clara. No entanto, vários estudos utilizam esta abordagem (Piratvisuth *et al*, 1995; Bilbao *et al*, 1997; Borghi-Scoazec *et al*, 1997; Gaffey *et al*, 1997; Suchiro *et al*, 1997; Kuo *et al*, 1998; Miki *et al*, 1998; Rosen *et al*, 1998). A baixa sensibilidade e especificidade do teste, considerando como padrão o índice de

reperfusão, pode ser imputada talvez exatamente à inadequação da estimativa do dano pela dosagem sérica de aminotransferases. O valor de predição positivo da biópsia de reperfusão esteve próximo a 70%. Considerando que a análise desta biópsia é feita no período pós-operatório imediato, a capacidade de prever 70% dos casos com efetivo dano de preservação mais grave parece ser relevante.

Gaffey *et al*, 1997, concluíram que a presença associada de necrose hepatocelular e neutrofilia sinusoidal na biópsia de reperfusão correlaciona-se com o desenvolvimento de lesão de preservação. Além disto, a elevação das aminotransferases foi mais marcada quando a lesão foi considerada moderada a grave. No presente estudo, o dano de preservação mais avançado correlacionou-se significativamente com a presença de disfunção primária do enxerto e com a magnitude do índice de reperfusão, indicando que o método anatomopatológico pode antecipar a evolução pós-transplante. Não houve relação, entretanto, entre o dano de preservação e a evolução a óbito ou IRA na primeira semana após a cirurgia. Em relação à sobrevida em 1 ano, no estudo em discussão, também não houve diferença em relação aos dados histológicos. Entretanto, a sobrevida foi diversa de acordo com a gravidade do índice bioquímico de preservação. Como houve associação entre o índice e o dano histológico, pode-se inferir que, se a amostra fosse maior, talvez os achados histológicos seriam capazes de demonstrar a sua influência. A extensão da necrose hepatocelular foi a alteração que mais se relacionou ao índice de preservação. Este achado é interessante e sua análise isolada ou uma composição com o índice de preservação talvez possa auxiliar para um diagnóstico mais acurado.

A análise da literatura indica que o dano de preservação persiste polêmico e atual. O número de estudos em animais privilegiando os campos de prevenção e diagnóstico demonstram que o tema ainda está longe de ter respostas claras e que ainda permanece muito restrito a esses passos, sem dúvida iniciais em toda a intervenção médica. Os poucos estudos em relação a tratamento do dano de preservação não são reflexo do desinteresse em tratar-se a lesão. Muito pelo contrário. O fato é que ainda estamos tentando compreender e diagnosticar

melhor esta potencial causa de complicações freqüentes e temidas do transplante hepático. Prever a função do enxerto após o transplante hepático representa uma ainda e cada vez mais uma área de especial interesse clínico.

Dentre os estudos analisados que utilizaram critérios anatomopatológicos para a estimativa do dano o estudo em questão é o que apresenta os dados de uma maneira mais detalhada.

6.8. Utilidade do teste:

“Antes de pedir um teste decida o que você fará se o teste for positivo ou negativo. Se as duas respostas forem iguais não faça o teste”

Archie Cochrane (appud Wagner, 1998b).

A biópsia de reperfusão é realizada no período final do transplante hepático, momento geralmente marcado pelo cansaço da equipe médica envolvida. Acrescenta tempo e algum risco. Seria inútil o procedimento? Ou, retornando à questão de Archie Cochrane, o que fazer com o seu resultado?

Na análise dos resultados deste estudo parece que a biópsia de reperfusão tem sim a possibilidade de detectar ainda no período pós-operatório imediato sinais de lesão hepática e que estes, ao se correlacionar positivamente com o índice de reperfusão, podem indicar que determinados indivíduos estão sob maior risco de má evolução. Nestes pacientes, portanto, medidas terapêuticas profiláticas, como a prevenção da insuficiência renal por monitoração hemodinâmica cuidadosa, hidratação parenteral e uso judicioso de drogas nefrotóxicas, bem como a utilização de estratégias para melhorar a função do enxerto, como o alprostadil, poderiam ser atitudes adequadas. Enveredar pelos caminhos da terapêutica, contudo, não é objetivo deste estudo. De forma que a demonstração que a biópsia de reperfusão pode ser útil constitui um passo

inicial na identificação de populações de risco que ensaios clínicos possam adequadamente estudar. Em nosso meio este é o primeiro estudo que analisa os achados anatomopatológicos decorrentes da lesão de isquemia/reperfusão.

O vírus C, segundo Berk, 2000, é “o vírus que inventou a Hepatologia”, tamanho o seu impacto na evolução desta especialidade médica. A infecção hepática crônica pelo HCV é a atual maior causa de transplante e também de retransplante em adultos no mundo. Muitos estudos têm sido realizados visando diminuir a recidiva e a sua influência negativa na sobrevida tanto do enxerto quanto do paciente no período pós-transplante. O estudo de Baron *et al*, 2000, associando o tempo de isquemia a quente – reconhecidamente o maior determinante do dano de preservação - com a recidiva do HCV, reacende os holofotes sobre a relevância do entendimento e diagnóstico da lesão de preservação. A relação entre o estímulo à regeneração hepática e a replicação viral é bastante interessante – e parece ser apropriado, neste momento, lembrar a figura das mitoses na biópsia de reperfusão de uma paciente portadora de HCV incluída na tese em debate (Figura 22- página). Molmenti & Klintmalm, 2000, em editorial da revista *Liver Transplantation* acerca do estudo de Baron *et al*, consideram que os seus achados antecipam outros dois desafios: aprimorar a técnica cirúrgica para minimizar o tempo de isquemia a quente e desenvolver métodos de tratamento para evitar o dano de preservação. O tratamento, e isto é um conceito básico em medicina, só pode partir de um diagnóstico adequado. A biópsia de reperfusão poderia, por conseguinte, ser utilizada não somente na estimativa da função do enxerto na primeira semana pós-transplante. Pode-se especular a sua utilidade na estimativa da sobrevida a longo prazo decorrente da infecção recidivante pelo vírus C, ou ainda, na identificação de indivíduos sob maior risco de desenvolvê-la e, portanto, com indicação de tratamento antiviral precoce. Esta assertiva, no entanto, por paradoxal que seja, é mais uma indagação e uma bem-sonante expectativa.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos especificados neste estudo e análise dos dados obtidos, podem ser enunciadas as seguintes conclusões:

- 1) O dano de preservação é universal após o transplante de fígado;
- 2) A análise da biópsia de reperfusão é capaz de detectar o dano de preservação sofrido pelo enxerto nos procedimentos envolvidos com o transplante hepático;
- 3) Existe associação entre as variáveis histológicas e bioquímicas na estimativa do dano;
- 4) A extensão da necrose hepatocitária exhibe a tendência de ser o achado anatomopatológico que melhor se relaciona ao índice de reperfusão;
- 5) Há influência do dano de preservação na função do enxerto pós-transplante, tanto aferida pela biópsia de reperfusão quanto pelo índice bioquímico;
- 6) O índice de reperfusão é uma variável independente na estimativa da função do enxerto;
- 7) Existe associação entre o dano de preservação e a incidência de insuficiência renal aguda no período pós-transplante imediato;
- 8) O índice de reperfusão é um fator de risco independente para insuficiência renal aguda pós-transplante;
- 9) A mortalidade na primeira semana após o transplante associou-se à gravidade do índice de reperfusão em análise univariada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASOGLU, O, LEVY, MF, TESTA, G, OBIEKWE, S, BRKIC, B, JENNINGS, L, GOLDSTEIN, RM, HUSBERG, BS, GONWA, TA, KLINTMALM, GB. Does intraoperative hepatic artery flow predict arterial complications after liver transplantation? *Transplantation* 1998; 66: 598-601.

ABROSIO, G, TRITTO, I, CHIARELLO, M. The role of oxygen free radicals in preconditioning. *J Mol Cell Card* 1995; 27:1035-1039.

ADAM, R, BISMUTH, H, DIAMOND, D, DUCOT, B, MORINO, M. Effect of extended cold ischemia with UW solution on graft function after liver transplantation. *Lancet* 1992; 340: 1373-1376.

AKAMATSU, Y, OHKOHCHI, N, DOI, H, SATOMI, S. Does elimination of Kupffer cells prolong survival time in liver transplantation? *Transpl Proc* 1999; 31: 545-547.

AKIMITSU, T, GUTE, DC, KORTHUIS, RJ. Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte adhesion and emigration. *Am J Physiol* 1996; 271: H2052-H2059.

AKRIVIADIS, EA, ERVIN, MG, COMINELLI, F, FISHER, DA, REYNOLDS, TB. Hyponatremia of cirrhosis: role of vasopressin and decreased "effective" plasma volume. *Scand J Gastroenterol*, 1997, 32: 829-834.

ALLISON, ME, WREGHITT, T, PALMER, CR, ALEXANDER, GJ. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994; 21: 1135-1139.

ALMENARA, R, GARCÍA-VALDECASAS, JC, NET, M, BARROS SCHELOTTO, P, VALERO, R, SUGRAÑES, G, LOPEZ-BOADO, M, ADALIA, R, CAPDEVILLA, LL, TAURÁ, P, ELENA, M, VISA, J. Normothermic recirculation in liver procurement from non heart beating donors: is it a mechanism of preconditioning? [abstract]. *Liver Transpl* 2000; 6: C-3.

ÁLVARES-DA-SILVA, MR. *Comparação entre a avaliação nutricional subjetiva global, índice nutricional prognóstico e força do aperto da mão não-dominante na avaliação nutricional do paciente cirrótico ambulatorial: a contribuição da dinamometria* [dissertação]. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995.

ÁLVARES-DA-SILVA, MR, FRANCISCONI, CF, WAECHTER, FL. Acute hepatitis C complicated by pancreatitis. Another extra-hepatic manifestation of hepatitis C virus? *J Viral Hep* 2000; 7: 84-86.

ÁLVARES-DA-SILVA, MR & SILVEIRA, TR. Hand-grip strenght as a diagnostic method of malnutrition in cirrhotic outpatients. A cross-sectional study [abstract]. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): 1210(A).

ÁLVARES-DA-SILVA, MR & SILVEIRA, TR. O estudo da força do aperto da mão não-dominante em indivíduos sadios. Determinação dos valores de referência para o uso da dinamometria. *GED*, 1998, 17 (6): 203-206.

ANGELESCU, M, HOFMANN, W, ZAPLETAL, C, BREDET, M, KRAUS, T, HERFARTH, C, KLAR, E. Histomorphological analysis of preservation injury as determinant of graft quality in clinical liver transplantation. *Transpl Proc* 1999; 31: 1074-1076.

ANGUS, PW, McCAUGHAN, GW, GANE, EJ, CRAWFORD, DHG, HARLEY, H and the Australasian Liver Transplant Study Group. Combination low-dose of hepatitis B immune globulin and lamivudine therapy provides effective prophylaxis against posttransplantation hepatitis B. *Liver Transpl* 2000; 6:429-433.

ARAYA, V, RAKELA, J, WRIGHT, T. Hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology*, 1997, 112: 575-582.

ARORA, AS & GORES, GJ. The role of metals in ischemia/reperfusion injury of the liver. *Semin Liver Dis*, 1996, 16 (1): 31-38.

ARROYO, V. New treatments for hepatorenal syndrome. *Liver Transplant* 2000; 6: 287-289.

ARROYO, V, GINÈS, P, GERBES, AL, DUDLEY, FJ, GENTILINI, P, LAFFI, G, REYNOLDS, TB, RING-LARSEN, H, SCHÖLMERICH, J. Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology*, 1996, 23(1): 164-176.

AS, AB, LOTZ, Z, TYLER, M, KAHN, D. Impact of early arterialization in the liver allograft. *Transpl Proc* 1999; 31: 406-407

ASCHER, NL. Expanded pool. *Liver Transpl Surg* 1998; 4: 249-250.

ASCHER, NL & ROBERTS, JP. Rejection after transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 265-273.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS. *RBT* 1999; 3:1-44.

AVOLIO, AW, AGNES, S, CHIRICO, AS, CASTAGNETO, M. Primary dysfunction after liver transplantation: donor or recipient fault? *Transpl Proc* 1999; 31: 434-436.

BACH, F, SINGER, D, SCHIEDL, A, BAUER, M, LARSEN, R. High energy phosphates and direct calorimetry as predictive parameters for metabolic recovery of the rat liver following ischemia. *Acta Anesthesiol Scand* 1996; 40: 940-947.

BAKER, K & NARAWAY, SA. Multiple organ failure during critical illness: how organ failure influences outcome in liver disease and liver transplantation. *Liver Transpl* 2000; 6(Suppl.1):S5-S9.

BAKER, JP, DETSKY, AS, WESSON, DE, WOLMAN, SL, STEWART, S, WHITWELL, J, LANGER, B, JEEJEBHOY, KN. Nutritional assessment: a comparison of clinical judgment and objective measurements. *N Engl J Med* 1982; 306: 962-972.

BAO, YM, ADAM, R, SEBAGH, M, REYNES, M, BISMUTH, H. Risk factors of preservation injury and prognostic value of reperfusion biopsy in outcome of liver transplantation. *Transpl Proc* 1996; 28: 123-125.

BARON, PW, SINDRAM, D, HIGDON, D, HOWELL, DN, GOTTFRIED, MR, TUTTLE-NEWHALL, JE, CLAVIEN, P-A. Prolonged rewarming time during allograft implantation predisposes to recurrent hepatitis C infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2000; 6:407-412.

BATALLER, R, GINÉS, P, ARROYO, V. Practical recommendations for the treatment of ascites and its complications. *Drugs*, 1997, 54(4): 571-580.

BEAGLEHOLE, R, BONITA, R & KJELLSTRÖM, T. Types d'étude. In: ____, eds. *Eléments d'épidémiologie*, 1994, Organisation Mondiale de la Santé, Genève, pp. 33-56

BELLÓ-KLEIN, A. *Contratura cardíaca induzida pelo peróxido de hidrogênio*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1994. [tese de doutorado].

BERENQUER, M, CRIPPIN, J, GISH, R, PRIETO, M, DAVIS, G, BAKER, C, WATSON, J, HILLYGUS, J, NETTO, G, ALONZO, J, GARCIA, R, BASS, T, WRIGHT, TL. Marked increase in post-transplantation HCV-related fibrosis progression in recent years [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-30.

BEEKHUIZEN, H & van de GEVEL, JS. Endothelial cell adhesion molecules in inflammation and postischemic reperfusion injury. *Transpl Proc* 1998; 30: 4251-4256.

BERK, PD. Introduction – Hepatitis C: the virus that created hepatology. *Sem Liver Dis* 2000; 20: i-ii.

BERLAKOVICH, GA, WINDHAGER, T, PUNZ, A, POKORNY, H, LANGER, F, LOSERT, UM, MUEHLBACHER, F, STEINIGER, R. Storage of the rat liver with Celsior in relation to hepatic energy metabolism [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-10.

BILBAO, I, CHARCO, R, HIDALGO, E, LÁZARO, JL, BALSELLS, J, MURIO, E, MARGARIT, C. Risk factors for severe ischemic injury after liver transplantation. *Transpl Proc* 1997; 29: 368-370.

BORGHI-SCOAZEC, G, SCOAZEC, JY, DURAND, F, BERNUAU, J, BELGHITTI, J, FELDMANN, G. Apoptosis after ischemia-reperfusion in human liver allografts. *Liver Transpl Surg* 1997; 3(Suppl 1): S1-S7.

BOSCH, X. Spain leads the world in organ donation and transplantation. *JAMA* 1999; 282: 17-18.

BROOKS, BK, LEVY, MF, JENNINGS, LW, ABBASOGLU, O, VODAPALY, M, GOLDSTEIN, RM, HUSBERG, BS, GONWA, TA, KLINTMALM, GB. Influence of donor and recipient gender on the outcome of liver transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1784-1787.

BROWN, RS Jr, LAKE, JR, ASCHER, NL, EMOND, JC, ROBERTS, JP. Predictors of the cost of liver transplantation. *Liver Transplant Surg*, 1998, 4(2): 170-176.

BULKE, GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery* 1983; 94: 407-411.

BUMGARDNER, GL & OROSZ, CG. Transplantation and cytokines. *Sem Liver Dis*, 1999; 19:189-204.

BZEIZI, KI, DAWKES, R, DODD, NJF, PLEVRIS, JN, HAYES, PC. Graft dysfunction following liver transplantation: role of free radicals. *J Hepatol* 1997; 26: 69-74.

CANCEMI, MT, CANCEMI, ET, RAMSAY, KJ, RAMSAY, MA, HEIN, HA, GOLDSTEIN, RM, LEVY, MF, MOLMENTI, EP, FASOLA, CG, JENNINGS, LW, BLACK, RE, KLINTMALM, GB. Prediction of high volume blood transfusion during orthotopic liver transplantation [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-56.

CARRASCO, L, SANCHEZ-BUENO, F, SOLA, J, RUIZ, JM, RAMIREZ, P, ROBLES, R, RODRIGUEZ, JM, PARRILLA, P. Effects of cold ischemia time on the graft after orthotopic liver transplantation. A bile cytological study. *Transplantation*, 1996, 61(3): 393-396.

CARSON, KL & HUNT, CM. Medical problems occurring after orthotopic liver transplantation. *Dig Dis Sci*, 1997, 42 (8): 1666-1674.

CASATO, M, TALIANI, G, PUCILLO, LP, GOFFREDO, F, LAGANA, B, BONOMO, L. Cryoglobulinaemia and hepatitis C virus. *Lancet* 1991; 337: 1047-1048.

CHAVEZ-CARTAYA, R, DESOLA, GP, RAMIRES-ROMERO, P, CALNE, SR, JAMIESON, NV. Ischemia and reperfusion injury of the rat liver: the role of nimodipine. *J Surg Res* 1996; 60: 199-206.

CHOWDHURY, JR. Foreword: prospects of liver cell transplantation and liver-directed gene therapy. *Sem Liver Dis* 1999; 19:1-6.

CISNEROS, C, GUILLÉN, F, GOMEZ, R, GUTIERREZ, J, VORWALD, P, MONTERO, A, MORENO, E. Analysis of warm ischemia time for prediction of primary nonfunction of the hepatic graft. *Transpl Proc* 1991; 23: 1976.

CLAVIEN, P-A. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology*, 1998, 28 (2): 281-285.

CLAVIEN, PA, HARVEY, PR, STRASBERG, SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53: 957-978.

COHEN, AJ, BURCZYNSKI, FJ, ROSSER, BG, LIPSCHITZ, J, MINUK, GY. The effects of various organ preservation solutions on hepatocyte membrane potentials, intracellular calcium concentrations, and outcome following liver transplantation. *Am J Surg* 2000; 179: 154-160.

COLOMBO, M. Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma. *Sem Liver Dis* 1999; 19: 263-269.

COLONNA, JO II. Technical problems: biliary. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 617-625.

COLQUHOUN, SD, BELLE, SH, SAMUEL, D, PRUETT, TL, TEPERMAN, LW. Transplantation in the hepatitis B patient and current therapies to prevent recurrence. *Sem Liver Dis* 2000; 20 (Suppl.1):7-12.

COLQUHOUN, SD & BUSUTTIL, RW. Graft failure: cause, recognition and treatment. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 607-616.

CRAWFORD, JM. The Liver. In: Cotran, RS, Kumar, V, Collins, T, eds. *Robbins Pathologic basis of disease*, 6th. ed, W.B.Saunders Company, Philadelphia, pp.846-891, 1999.

CRIPPIN, JS. Liver transplantation for cholestatic liver disease: screening and assessment of risk factors. *Liver Transplant Surg*, 1998; 4(5), Suppl 1: S2-S8

CROSS, CE, HALLIWELL, B, BORISH, ET, PRYOR, WA, AMES, B, SAUL, RL, McCORD, JM, HARMAN, D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.

CUERVAS-MONS, V, COLÁS, A, RIVERA, JE, PRADOS, E. In vivo efficacy of a bioartificial liver in improving spontaneous recovery from fulminant hepatic failure: a controlled study in pigs. *Transplantation* 2000; 69 (3): 337-344.

D'ALESSANDRO, AM, PLOEG, RJ, KNECHTLE, SJ. Retransplantation of the liver – a seven-year experience. *Transplantation*, 1993, 55: 1083-1089.

DAVERN, TJ & LAKE, JR. Recurrent disease after liver transplantation. *Sem Gastroint Dis* 1998; 9: 86-109.

De CARLIS, L, SANSALONE, C, RONDINARA, G, COLELLA, G, SLIM, AO, ROSSETTI, O, ASENI, P, DELLA VOLPE, A , BELLI, LS, ALBERTI, A, FESCE, R, FORTI, D. Is the use of marginal donors justified in liver transplantation? Analysis of results and proposal of modern criteria. *Transpl Int* 1996; 9 (Suppl.1): S414-S417.

Del MAESTRO, RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Free Rad Med Biol* 1980; 492: 153-168.

DEMETRIS, AJ, BATTS, KP, DHILLON, AP, FERRELL, L, FUNG, J, GELLER, SA, HART, J, HAYRY, P, HOFMANN, WJ, HUBSCHER, S, KEMNITZ, J, KOUKOULIS, G, LEE, RG, LEWIN, KJ, LUDWIG, J, MARKIN, RS, PETROVIC, LM, PHILLIPS, MJ, PORTMANN, B, RAKELA, J, RANDHAWA, P, REINHOLT, F, REYNÈS, M, ROBERT, M, SCHLITT, H, SOLEZ, K, SNOVER, D, TASKINEN, E, THUNG, SN, TILLERY, W, WIESNER, RH, WIGHT, D, WILLIAMS, JW, YAMABE, H. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997; 25: 658-663.

DETSKY, AS, McLAUGHLIN, JR, BAKER, JP, JOHNSTON, N, WHITTAKER, S, MENDELSON, RA, JEEJEEBHOY, KN. What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN* 1987, 11: 8-13.

De WOLF, AM. Intraoperative concerns when a liver recipient is critically ill. *Liver Transpl* 2000; 6(Suppl.1):S10-S13.

DODSON, SF, ISSA, S, ARAYA, V, GAYOWSKI, T, PINNA, A, EGHTEHAD, B, IWATSUKI, S, MONTALVO, E, RAKELA, J, FUNG, JJ. Infectivity of hepatic allografts with antibodies to hepatitis B virus. *Transplantation* 1997; 64: 1582-1584.

DUNNE, JB, PIRATVISUTH, T, WILLIAMS, R, TREDGER, JM. Treatment of experimental ischemia/reperfusion injury with S-adenosylmethionine. Evidence that donor pretreatment complements other regimens. *Transplantation* 1997; 63: 500-506.

EMMANOUILIDES, C, HOLT, CD, WINSTON, DJ. Infections after liver transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 633-647.

EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER. International Consensus Conference on Hepatitis C. *J Hepatol*, 1999; 30:956-961.

FASOLA, CG, MOLMENTI, EP, NETTO, GJ, JENNINGS, LW, GONWA, TA, GOLDSTEIN, RM, LEVY, MF, KLINTMALM, GK. Does mofetil mycophenolate (MMF) delay hepatitis C recurrence in liver transplant patients? [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-31.

FLAMM, S, ALONSO, E, BLEI, AT, WHITINGTON, P, FRYER, J, STUART, F, SUPERINA, R, ABECASSIS, M. The role of liver biopsy in the evaluation of living donors. [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-13.

FLETCHER, RH, FLETCHER, SW & WAGNER, EH. Frequência. In: __, eds. *Epidemiologia clínica: elementos essenciais*, 1996a, Artes Médicas, Porto Alegre, pp 84-102.

FLETCHER, RH, FLETCHER, SW & WAGNER, EH. Risco. In: __, eds. *Epidemiologia Clínica: Elementos essenciais*, 1996b, Artes Médicas, Porto Alegre, pp103-119.

FLETCHER, RH, FLETCHER, SW & WAGNER, EH. Estudando casos. In: __, eds. *Epidemiologia Clínica: Elementos essenciais*, 1996c, Artes Médicas, Porto Alegre, pp217-235.

FOX, IJ. Hepatocyte transplantation / xenotransplantation. American Association for the Study of Liver Diseases. *Postgraduate course: Hepatology into the next millennium: lessons from the past – issues for the future* 1999, pp.242-248.

FOX, IJ, CHOWDHURY, JR, KAUFMAN, SS, GOERTZEN, TC, CHOWDHURY, NR, WARKENTIN, PI, DORKO, K, SAUTER, B, STROM, SC. Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med* 1998; 338: 1422-1426.

GAFFEY, MJ, BOYD, JC, TRAWEEK, ST, ALI, MA, REZEIG, M, CALDWELL, SH, IEZZONI, JC, McCULLOUGH, C, STEVENSON, WC, KHUROO, S, NEZAMUDDIN, N, ISHITANI, MB, PRUETT, TL. Predictive value of intraoperative biopsies and liver function tests for preservation injury in orthotopic liver transplantation. *Hepatology*, 1997, 25: 184-189.

GHOLSON, CF, ZIBARI, G, McDONALD, JC. Endoscopic diagnosis and management of biliary complications following orthotopic liver transplantation. *Dig Dis Sci*, 1996, 41(6): 1045-1053.

GIBSON, R. Determining nutritional status. In: Mann, J & Truswell, AS , eds, *Essentials of human nutrition*, Oxford, Oxford University Press, 1998, pp427-457

GREIG, PD, FOSTER, J, SUPERINA, RA, StTRASBERG, SM, MOHAMMED, M, BLENDIS, LM, TAYLOR, BR. Donor-specific factors predict graft function following liver transplantation. *Transplant Proc*, 1990, 22: 2072-2073.

GROMPE, M, LACONI, E, SHAFRITZ, DA. Principles of therapeutic liver repopulation. *Sem Liver Dis* 1999; 19:7-14.

GUPTA, S, GORLA, GR, IRANI, NA. Hepatocyte transplantation: emerging insights into mechanisms of liver repopulation and their relevance to potential therapies. *J Hepatol* 1999; 30: 162-170.

HADZIYANNIS, SJ. The spectrum of extrahepatic manifestations in hepatitis C virus infection. *J Viral Hep* 1997; 4: 9-28.

HARRISON, J, MCKIERNAN, J, NEUBERGER, JM. A prospective study on the effect of recipient nutritional status on outcome in liver transplantation. *Transpl Int* 1997; 10:369-374.

HASSE, J. Nutritional aspects of adult liver transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 359-367.

HASSE, J, STRONG, S, GORMAN, MA, LIEPA, G. Subjective global assessment: alternative nutrition assessment technique for liver transplant candidates. *Nutrition* 1993; 9: 339-343.

HAY, JE. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis: does medical treatment alter timing and selection? *Liver Transplant Surg*, 1998; 4(5), Suppl 1: S9-S17.

HAYASHI, M, SHIMIZU, Y, MURAKAMI, M, KUSANO, M. Rewarming injury of the graft liver in orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 1998; 30: 3692-3693.

HENLEY, KS, LUCEY, MR, NORMOLLE, DP, MERION, RM, McLAREN, ID, CRIDER, BA, MACKIE, DS, SHIECK, VL, NOSTRANT, TT, BROWN, KA, CAMPBELL, DA Jr, HAM, JM, APPELMAN, HD, TURCOTTE, JG. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of prostaglandin E1 in liver transplantation. *Hepatology*, 1995, 21: 366-372.

HERTL, M, HOWARD, TK, LOWELL, JÁ, SHENOY, S, HARVEY, PR, STRASBERG, SM. Changes in liver core temperature during preservation and rewarming in human and porcine liver allografts. *Liver Transpl Surg* 1996; 2: 111-117.

HOWARD, T. Piggyback liver transplantation with temporary portocaval shunting. *Liver Transplant Surg*, 1997, 3(5) Suppl 1: S40.

IMAGAWA, DK & BUSUTTIL, RW. Technical problems: vascular. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 626-632.

IMBERTI, R, VAIRETTI, M, GUALEA, MR, FELETTI, F, POMA, G, RICHELMI, P, PRESEGLIO, I, BELLOMO, G. The effects of thyroid hormone modulation on rat liver injury associated with ischemia-reperfusion and cold storage. *Anesth Analg* 1998; 86: 1187-1193.

ISHAK, KG & SHARP, HL Developmental abnormalities and liver disease in childhood. In: MacSween, RNM, Anthony, PP, Scheuer, PJ, Burt, AD, Portmann, BC, eds, *Pathology of the liver*, 3rd.ed, 1996, pp 83-122

ISHIDA, T, YARAMIZU, K, GUTE, DG, KORTHUIS, RJ. Mechanisms of ischemic preconditioning. *Shock* 1997; 8: 86-94.

ISOZAKI, H, GIGOU, M, SZEKELY, AM, SHEN, M, BISMUTH, H. Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. *Br J Surg* 1992; 79: 310-313.

ITALIAN MULTICENTRE COOPERATIVE PROJECT ON NUTRITION IN LIVER CIRRHOSIS. Nutritional status in cirrhosis. *J Hepatol*, 1994, 21: 317-325.

JAESCHNKE, H. Preservation injury: mechanisms, prevention and consequences. *J Hepatol* 1996; 25: 774-780.

JEEJEEBHOY, KN. The functional basis of assessment. In: Kinney, KM, Jeejeebhoy, KN, Hill, GL, Owen, OE, eds. *Nutrition and metabolism in patient care*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1998, pp. 739-751.

JIMÉNEZ-ROMERO, C, MORENO-GONZÁLEZ, E, COLINA RUÍZ, F, CARAZO, FP, LOINAZ SEGUROLA, C, RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, F, GONZÁLEZ PINTO, I, GARCÍA GARCÍA, I, RODRÍGUEZ ROMANO, D, MORENO SANZ, C. Use of octogenarian livers safely expands the donor pool. *Transplantation* 1999; 68: 572-575.

KAKIZOE, S, YANAGA, K, STARZL, TE, DEMETRIS, AJ. Frozen section of liver biopsy for the evaluation of liver allografts. *Transpl Proc* 1990a; 22: 416-417.

KAKIZOE, S, YANAGA, K, STARZL, TE, DEMETRIS, AJ. Evaluation of protocol before transplantation and after reperfusion biopsies from human orthotopic liver allografts: considerations of preservation and early immunologic injury. *Hepatology* 1990b; 11: 932-941.

KANG, Y. Coagulopathies in hepatic disease. *Liver Transpl* 2000; 6(Suppl 1):S72-S75.

KAHN, D. Liver transplantation: does prolonged storage promote non-anastomatic biliary structures? *HPB Surgery* 1996; 9: 113-115.

KEATING, J, NEUBERGER, J, CLARKE, M. Renal function and morphology in cyclosporin A-treated liver transplant recipients. *Clin Transpl*, 1988, 2:110-116.

KEEFFE, EB. Summary of guidelines on organ allocation and patients listing for liver transplantation. *Liver Transplant Surg*, 1998, 4(5) Suppl 1 : S108-S114.

KIELING, CO, SILVEIRA, TR, FERREIRA, CT, VIEIRA, SM, ALENCASTRO, RP, THOMÉ, AC, ZANOTELLI, ML, CANTISANI, GC. Comparative results of standard liver tests in reduced-size and whole liver transplantation in children [abstract]. *Liver Transpl* 2000; 6: C-52.

KIM, WR & DICKSON, ER. The role of prognostic models in the timing of liver transplantation. *Clin Liver Dis*, 1997, 1(2): 263-279.

KITAY-COHEN, Y, BEM-ARI, Z, TUR-KASPA, R, FAINGUELERNT, H, LISHNER, M. Extension of transplantation free time by lamivudine in patients with hepatitis B-induced decompensated cirrhosis. *Transplantation*, 2000; 69: 2382-2383.

KIUCHI, T, SCHLITT, HJ, OLDHAFER, KJ, NASHAN, B, TANAKA, A, WONIGEIT, K, RINGE, B, TANAKA, K, YAMAOKA, Y, PICHLMAYR, R. Early acute rejection after hepatic graft reperfusion: association with ischemic injury with good function, oxygenation heterogeneity, and leukocyte adhesion without aggregation. *Transpl Proc* 1997; 29: 364-365.

KLAR, E, ANGELESCU, M, ZAPLETAL, C, KRAUS, T, BREDT, M, HERFARTH, C. Definition of maximum cold ischemia time without reduction of graft quality in clinical liver transplantation. *Transpl Proc* 1998; 30: 3683-3685.

KLAR, E, BREDT, M, KRAUS, T, ANGELESCU, M, MEHRABI, A, SENNINGER, N, OTTO, G, HERFARTH, C. Early assessment of reperfusion injury by intraoperative quantification of hepatic microcirculation in patients. *Transpl Proc* 1997; 29: 362-363.

KLEIN, AS, COFER, JB, PRUETT, TL, THULUVATH, PJ, MCGORY, R, UBER, L, STEVENSON, WC, BALIGA, P, BURDICK, JF. Prostaglandin E1 administration following orthotopic liver transplantation: a randomized prospective multicenter trial. *Gastroenterology*, 1996, 111: 710-715.

KLINTMALM, GB & BUSUTTIL, RW. The recipient hepatectomy and grafting. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996a , pp. 405-418.

KLINTMALM, GB & BUSUTTIL, RW. Combined liver-kidney transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996b, 514-517.

KOFF, RS & DIENSTAG, JL. Extra hepatic manifestations of hepatitis C and the association with alcoholic liver disease. *Sem Liv Dis* 1995; 15: 101-109.

KONDO, T, TERAJIMA, H, TODOROKI, T, HIRANO, T, ITO, Y, USIA, T, MESSMER, K. Prevention of hepatic ischemia-reperfusion injury by SOD-DIVEMA conjugate. *J Surg Res* 1999; 85: 26-36.

KRENSKY,AM. Immune response to allografts. In: Norman, DJ & Suki, WN, eds. *Primer on Liver Transplantation*, Rochester, 1998, pp.21-31.

KUO, PC, DRACHENBERG, C, de la TORRE, A, BARTLETT, ST, LIM, JW, PLOTKIN, JS, JOHNSON, JL. Apoptosis and hepatic allograft reperfusion injury. *Clin Transplant* 1998; 12: 219-223.

LAKE, JR. Hepatocyte transplantation. *N Engl J Med* 1998; 338: 1463-1465.

LAND, W. Prologue. *Transpl Proc* 1998 a; 30: 4210-4213.

LAND, W. Ischemia/reperfusion injury and upregulation of major histocompatibility complex expression. *Transpl Proc* 1998b; 30: 4263.

LANGNAS, AN & HOWARD, T. Debate: venovenous bypass vs. caval preservation. American Association for the Study of Liver Diseases & The International Liver Transplantation Society. *Postgraduate course: Recurrent liver disease after liver transplantation: diagnosis and management*, 1996, pp 99-101.

LEEVEY, CM, SHERLOCK, S, TYGSTRUP, N, ZETTERMANN, R. *Diseases of the liver and biliary tract*. Standardization of nomenclature, diagnostic criteria, and prognosis. Raven Press, New York, 1994, pp 61-62.

LENTSCH, AB, YOSHIDOME, H, WARNER, RL, WARD, PA, EDWARDS, MJ. Secretory leukocyte protease inhibitor in mice regulates local and remote organ inflammatory injury induced by hepatic ischemia/reperfusion. *Gastroenterology* 1999; 117: 953-961.

LERUT, JP, MOLLE, G, DONATACCIO, M, DeKOCK, M, CICARELLI, O, LATERRE, P-F, van LEEUW, V, BOURLIER, P, GOYET, JV, REDING, R, GIBBS, P, OTTE, J-B. Cavocaval liver transplantation without venovenous bypass and without temporary portocaval shunting: the ideal technique for adult liver grafting? *Transpl Int*, 1997, 10: 171-179.

LEVY, GA. I Favor Neoral/Cyclosporine-based immunosuppression. The American Association for the Study of Liver Diseases & The International Liver Transplantation Society. *Postgraduate course: Hepatic allograft rejection and evolving immunosuppressive strategies*, 1998, pp 43-50.

LIU, P, McGUIRE, GM, FISHER, MA, FARHOOD, A, SMITH, CW, JAESCHNKE, H. Activation of Kupffer cells and neutrophils for reactive oxygen formation is responsible for endotoxin-enhanced liver injury after hepatic ischemia. *Shock* 1995; 3: 56-62.

LUCEY, MR, BROWN, KA, EVERSON, GT, FUNG, JJ, GISH, R, KEEFFE, EB, KNETEMANN, NM, LAKE, JR, MARTIN, P, McDIARMID, SV, RAKELA, J, SCHIFFMANN, ML, SO, SK, WIESNER, RH. Minimal criteria for placement of adults on the liver transplant waiting list: a report of a national conference organized by the American Society of Transplant Physicians and

the American Association for the Study of Liver Diseases. *Liver Transplant Surg*, 1997; 3(6): 628-637.

LUDWIG, J & BATTS, KP. Transplantation pathology. In: MacSween, RNM, Anthony, PP, Scheuer, PJ, Burt, AD, Portmann, BC, eds, *Pathology of the liver*, 3rd.ed, 1996, pp.765-786.

LUFT, S. *Avaliação da utilidade do teste salivar da eliminação da cafeína como auxiliar na indicação de transplante hepático infantil* [dissertação de mestrado]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997.

MADDREY, WC. Bioartificial liver in the treatment of hepatic failure. *Liver Transpl* 2000; 6(Suppl.1):S27-S30.

MAGGI, U, GALMARINI, M, MELADA, E, ROSSI, G, GATTI, S, REGGIANI, P, LATHAN, L, OLMETTI, S, ZERBONI, F, FASSATI, LR. Celsior solution in liver transplantation [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-9.

MANFRO, RC. *Punção aspirativa no diagnóstico da rejeição aguda em transplantes renais: reprodutibilidade e expressão de HLA-DR e ICAM-1* [tese de doutorado]. Escola Paulista de Medicina, 1994.

MARCOS, A, FISHER, RA, HAM, JM, OLZINSKI, AT, SCHIFFMAN, ML, SANYAL, AJ, LUKETIC, VA, STERLING, RK, OLBRISCH, ME, POSNER, MP. Selection and outcome of living donors for adult to adult right lobe transplantation. *Transplantation*, 2000; 69:2410-2415.

MARGREITER, R, KRAMAR, R, HUBER, C, STEINER, E, NIEDERWIESER, D, JUDMAIER, G, VOGEL, W. Combined liver and kidney transplantation. *Lancet*, 1984, i: 1077-1078.

MARKIN, RS, WISECARVER, JL, RADIO, SJ, STRATTA, RJ, LANGNAS, AN, HIRST, K, SHAW, BW Jr. Frozen section evaluation of donor livers before transplantation. *Transplantation*, 1993, 56(6): 1403-1409.

MARKIN, RS & WRIGHT, TL. Post-transplant chronic viral infections. American Association for the Study of Liver Diseases. *Postgraduate course: Clinical and pathological correlations in liver disease: approaching the next millennium*, 1998, pp. 156-171.

MARSANO, L & McCLAIN, CJ. Nutrition and alcoholic liver disease. *JPEN*, 1991, 15: 337-344.

MASSBERG, S & MESSMER, K. The nature of ischemia/reperfusion injury. *Transplant Proc*, 1998, 30: 4217-4223.

MAZARIEGOS, GV, O'TOOLE, K, MIELES, LA, DVORCHIK, I, MEZA, M, BRIASSOULIS, G, ARZATE, J, OSORIO, G, FUNG, JJ, REYES, J. Hyperbaric oxygen therapy for hepatic artery thrombosis after liver transplantation in children. *Liver Transpl Surg* 1999; 5: 429-436.

MAZZAFERRO, V, COPPA, J, SCHIAVO, M, ZUCCHINI, N, TAGGER, A, RIBERO, ML, ROMITO, R, PULVIRENTI, A, REGALIA, E. Experience with interferon- α 2b and ribavirin prophylaxis after liver transplantation in HCV-RNA positive recipients [abstract] *Liver Transpl* 2000; 6: C-31.

McCULLOUGH, AJ. Nutritional state and abnormal metabolism of nutrients. American Association for the Study of Liver Diseases. *Postgraduate course: newer aspects on alcohol, nutrition, and hepatic encephalopathy*, 1992: 204-244.

McCULLOUGH, AJ- Malnutrition in liver disease. *Liver Transplant* 2000; 6(Suppl 1): S85-S96

McCULLOUGH, AJ. Nutritional state and abnormal metabolism of nutrients. American Association for the Study of the Liver Diseases. *Postgraduate course: newer aspects on alcohol, nutrition, and hepatic encephalopathy*, 1992, pp. 204-244.

McKEON, CM, EDWARDS, V, PHILLIPS, MJ, HARVEY, PR, PETRUNKA, CN, STRASBERG, SM. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988; 46: 178-191.

McMASTER, P & VADEYAR H. Spain model: world leaders in organ donation. *Liver Transplant* 2000; 6: 501-503.

MELENDEZ, HV & HEATON, ND. Understanding "marginal " liver grafts. *Transplantation* 1999: 68: 469-470.

MENEGAUX, F, EGAWA, H, KEEFFE, EB, SO, SK, CONCEPCION, W, COLLINS, GM, ESQUIVEL, CO. Comparative effects of blood, colloid, and Ringer's lactate terminal allograft rinse on the results of orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 1993; 25: 3196-3198.

MIKI, C, IRIYAMA, K, MIRZA, DF, MAYER, AD, BUCKELS, JÁ, SUZUKI, H, McMASTER, P. Postperfusion energy metabolism of steatotic grafts and its relation to early graft viability following liver transplantation. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 74-79.

MINOR, T, AKBAR, S, YAMAMOTO, Y. Adenosine A2 receptor stimulation protects the predamaged liver from cold preservation through activation of cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A pathway. *Liver Transpl* 2000; 6: 196-200.

MINAMIGUCHI, S, SAKURAI, T, FUJITA, S, OKUNO, T, HAGA, H, MINO, M, KANEHIRA, K, MATSUSHIRO, H, NAKASHIMA, Y, INOMATA, Y, TANAKA, K, YAMABE, H. Living related liver transplantation: histopathologic analysis of graft dysfunction in 304 patients. *Human Pathol* 1999; 30: 1479-1487.

MINOR, T, KLAUKE, H, NAGELSCHMIDT, M, ISSELHARD, W. Reduction of proteolysis by venous-systemic oxygen persufflation during rat liver preservation and improved functional outcome after transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 365-368.

MINOR, T, KLAUKE, H, VOLLMAR, B, ISSELHARD, W, MENGER, MD. Biophysical aspects of liver aeration by vascular persufflation with gaseous oxygen. *Transplantation* 1997; 63: 1843-1846.

MINOR, T & ISSELHARD, W. Impaired vascular conductance after global hepatic ischemia. Significance of the oxygen paradox and the vascular endothelium. In: Messmer, K, Menger, MD & Land, E (eds): *Microcirculation*

in organ transplantation. Progress in applied microcirculation. Karger, Basel, 1995; pp 33-42.

MIRZA, D, GUNSON, B, Da SILVA, R, MAYER, A, BUCKELS, J, McMASTER, P. Policies in Europe on "marginal quality" donor livers. *Lancet* 1994; 344: 1480-1483.

MOLMENTI, EP & KLINTMALM, GBG. Hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2000; 6:413-414.

MUELLER, AR, PLATZ, KP, KRAUSE, P, STEINMÜLLER, T, GLANEMANN, M, NEUMANN, U, LOBECK, H, NEUHAUS, P. Is the use of marginal liver grafts justified? *Transpl Proc* 1999; 31: 401-402.

MUELLER, AR, PLATZ, KP, SCHUMACHER, G, RIGER, J, GEBAUER, B, NEUMANN, U, NEUHAUS, P. Mechanisms of preservation and reperfusion injury in human liver transplantation. *Transpl Proc* 1997; 29: 3455-3457.

MÜLLER, MJ. Malnutrition in cirrhosis. *J Hepatol*, 1995, 23 Suppl 1: 31-35.

MUÑOZ, S. American Gastroenterological Association. *Undergraduate Teaching Project in Gastroenterology and Liver Disease: Transplantation Immunology*, 1997, pp 1-47.

NATORI, S, SELZNER, M, VALENTINO, KL, FRITZ, LC, SRINIVASAN, A, CLAVIEN, P-A, GORES, GJ. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells occurs during liver preservation injury by a caspase-dependent mechanism. *Transplantation* 1999; 68: 89-96.

NAVARRO, F, Le MOINE, M-C, FABRE, J-M, BELGHITTI, J, CHERQUI, D, ADAM, R, PRUVOT, FR, LETOUBLON, C, DOMERGUE, J. Specific vascular complications of orthotopic liver transplantation with preservation of the retrohepatic vena cava: review of 1361 cases. *Transplantation* 1999; 68: 646-650.

NAVASA, M, BUSTAMANTE, J, MARRONI, C, GONZÁLEZ, E, ANDREU, H, ESTMATJES, E, GARCÍA-VALDECASAS, JC, GRANDE, L, CIRERA, I, RIMOLA, A, RODÉS, J. Diabetes mellitus after liver transplantation: prevalence and predictive factors. *J Hepatol* 1996; 25: 64-71.

NET, M, GARCÍA-VALDECASAS, JC, ALMENARA, R, VALERO, R, LOPEZ-BOADO, M, BARROS SCHELOTTO, P, SUGRAÑES, G, CAPDEVILLA, LL, MIQUEL, R, TAURÁ, P, DEULOFEU, R, VISA, J. Conditioning of liver grafts obtained after prolonged periods of warm ischemia by means of S-adenosyl-L-methionine administration [abstract]. *Liver Transpl* 2000; 6: C-4.

NEUBERGER, J. Incidence, timing and risk factors for acute and chronic rejection. American Association for the Study of the Liver Diseases & The International Liver Transplantation Society. *Postgraduate course: Hepatic allograft rejection and evolving immunosuppressive strategies*, 1998, pp 31-39.

NICOLLI, A, CONSTANTINI, P, BASSO, E, COLONNA, R, PETRONILLI, V, BERNARDI, P. Potential role of cyclosporin A- sensitive mitochondrial channels in ischemia-reperfusion injury. *Transpl Proc* 1995; 27: 2825-2826.

NORMAN, DJ. Allocation of livers for liver transplantation. Ethics and politics. *Clin Liver Dis* 1997; 1: 281-286.

NUÑO, J, CUERVAS-MONS, V, VICENTE, E, TURRION, V, PEREIRA, F, MORA, NP, BARRIOS, C, MILLAN, I, ARDAIZ, J. Renal failure after liver transplantation: analysis of risk factors in 139 liver transplant recipients. *Transpl Proc* 1995; 27: 2319-2320.

NYBERG, SL & MISRA, SP. Hepatocyte liver-assist systems – a clinical update. *Mayo Clin Proc* 1998; 73: 765-771.

OZAKI, CF, LANGNAS, AN, BYNON, JS, PILLEN, TJ, KANGAS, J, VOGEL, JE, SHAW, BW Jr. A percutaneous method for veno-venous bypass in liver transplantation. *Transplantation*, 1994, 57 (3): 472-473.

PARRILLA, P, SÁNCHEZ-BUENO, F, FIGUERAS, J, JAURRIETA, E, MIR, J, MARGARIT, C, LÁZARO, J, HERRERA, L, GÓMEZ-FLEITAS, M, VARO, E, VICENTE, E, ROBLES, R, RAMÍREZ, P. Analysis of the complications of the piggy-back technique in 1,112 liver transplants. *Transplantation* 1999; 67: 1214-1217.

PATEL, T & GORES, GJ. Apoptosis in liver transplantation: a mechanism contributing to immune modulation, preservation injury, neoplasia and viral disease. *Liver Transplant Surg*, 1998, 4(1): 42-50.

PAUL, LC & KUBES, P. Adhesion molecules directed therapies: potential applications in organ transplantation. In: Messmer, K, Menger, MD & Land,

W, eds. *Microcirculation in organ transplantation. Progress in applied microcirculation*. Basel, Karger, 1995, pp.17-30.

PERALTA, C, BARTRONS, R, RIERA, L, MANZANO, A, XAUS, C, GELPI, E, ROSELLO-CATAFAU, J. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279:G163-G171.

PEREIRA-LIMA, L, WAECHTER, FL, SAMPAIO, JA, PINTO, RD, ÁLVARES-DA-SILVA, MR, FRANCISCONI, CF. Liver transplantation in situs inversus. *HPB Surgery* 2000; 2: 91-94.

PERRILLO, RP, KRUGER, M, SIEVERS, T. Posttransplantation: emerging and future therapies. *Sem Liver Dis* 2000; 20 (Suppl.1):13-17.

PETERS, MG, SHOVEL, D, BONHAM, A, VIERLING, JM, LOK, AS. Posttransplantation: future therapies. *Sem Liver Dis* 2000; 20 (Suppl.1):19-24.

PETROWSKY, H, DIPPE, B, GECK, P, LINCKE, M, KOENIG, J, BHATTI, S, WENISCH, HJC, ENCKE, A. Do oxygen radicals play a role in primary dysfunction of transplanted livers following preservation in University of Wisconsin solution? *Transplant Proc*, 1995, 27: 739-731.

PIRATVISUTH, T, TREDGER, JM, HAYLAR, KA, WILLIAMS, R. Contribution of true cold and rewarming ischemia times to factors determining outcome after orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1995; 1: 296-301.

PLEVAK, DJ & FINDLAY, JY. Critical care issues in liver transplantation. *Liver Transpl* 2000; 6(Suppl.1):S2-S4.

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. *J Hepatol*, 1999, 30: 142-148.

POST, S, PALMA, P, GONZÁLEZ, AP, RENTSCH, M, MENGER, MD. Microcirculatory events after reperfusion in liver transplantation. In: Messmer, K, Menger, MD & Land, E (eds): *Microcirculation in organ transplantation. Progress in applied microcirculation*. Karger, Basel, 1995; pp 43-50.

PRUIM, J, KLOMPMAKER, I, HAAGSMA, A, SLOOF, M. Selection criteria for liver donation: a review. *Transpl Int* 1993; 6: 226 -229.

RAMSAY, MA & SWYGERT, TH. Anesthesia for liver transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996.

RATNOFF, OD. Hemostatic defects in liver and biliary tract disease and disorders of vitamin K metabolism. In: Ratnoff, OD & Forbes, CD., eds, *Disorders of Hemostasis*, 3rd. Ed, 1996, W.B.Saunders Company, Philadelphia, pp.422-442.

REDDY, KR. American Association for the Study of the Liver Diseases. *Chronic hepatitis C –a symposium: HCV: the unpredictability of progression.*, 1996; pp. 12-13.

REGUEIRA, FM, HERNÁNDEZ, JL, SOLA, I, CIENFUEGOS, J-A, PARDO, F, DÍEZ-CABALLERO, A, SIERRA, A, NWOSE, E, ESPÍ, A, BAIXAÚLI, J, ROTELLAR, F. Ischemic damage prevention by N-acetylcysteine treatment of the donor before orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 1997; 29: 3347-3349.

REICH, D, ROTHSTEIN, K, MANZARBEITIA, C, MUÑOZ, S. Common medical diseases after liver transplantation. The American Association for the Study of Liver Diseases. *Postgraduate course: Clinical and pathological correlations in liver disease: approaching the next millennium*, 1998, pp. 110-125.

REINDERS, ME, van WAGENSVELD, BA, van GULIK, TM, CORSSMIT, NPM, FREDERIKS, WM, CHAMULEAU, RA, van ROOIJEN, N, OBERTOP, H. No attenuation of ischemic and reperfusion injury in Kupffer cell-depleted, cold-preserved rat livers. *Transplantation* 1997; 63: 449-454.

RHODEN, EL. *Isquemia e reperfusão normotérmica hepática e efeitos do alopurinol: estudo experimental em ratos*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998 [dissertação de mestrado].

RHODEN, EL, MAURI, M, PETTEFFI, L, BELLÓ-KLEIN, A, KALIL, AN, PEREIRA-LIMA, L, RHODEN, CR. Efeito da reperfusão na lesão tecidual causada por radicais livres em ratos submetidos à isquemia hepática. *GED* 1996; 15:49-52.

ROSEN, HR & MARTIN, P. Liver transplantation. In: Schiff, ER, Sorrell, MF & Maddrey, WC, eds, *Schiff's Diseases of the Liver*. 8 th edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1999, pp 1589-1615.

ROSEN, HR, MARTIN, P, GOSS, J, DONOVAN, J, MELINEK, J, RUDICH, S, IMAGAWA, DK, KINKHABWALA, M, SEU, P, BUSUTTIL, RW, SHACKLETON, CR. Significance of aminotransferase elevation early following liver transplantation. *Transplantation*, 1998; 65 (1): 68-72.

ROTHMAN, K. The role of statistics in epidemiology. In: Rothman,K, ed, *Modern epidemiology*. Little, Brown and Co, Boston, 1986a, pp. 115-130

ROTHMAN, K. Multivariate analysis. In: Rothman, K, ed, *Modern epidemiology*. Little, Brown and Co, Boston, 1986b, pp. 285-310.

SALIZZONI, M, ZAMBONI, F, FRANCELLO, A, LAVEZZO, B, COCCHIS, D, GIACARDI, A, RICCHIUTI, A, RIZZETTO, M. Outcome of patients transplanted with liver from hepatitis C-positive donors. *Liver Transplant* 2000; 6: C-12.

SÁNCHEZ-URDAZPAL, L, GORES, GJ, LEMASTERS, JJ, THURMAN, RG, STEERS, JL, WAHLSTROM, HE, HAY, EI, PORAYKO, MK, WIESNER, RH, KROM, RA. Carolina rinse solution decreases liver injury during clinical liver transplantation. *Transplant Proc*, 1993, 25 (1): 1574-1575.

SÁNCHEZ-URDAZPAL, L, GORES, GJ, WARD, EM, MAUS, TP, WAHLSTROM, HE, MOORE, SB, WIESNER, RH, KROM, RA. Ischemic-type

biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1992; 16: 49-53.

SCHAFFER, D & SORRELL, MF. Prostaglandins in liver transplantation: a promise unfulfilled. *Gastroenterology* 1996; 819-820.

SCHIRREN, CA, ZACHOVAL, R, SCHIRREN, CG, GERBES, AL, PAPE, GR. A role for chronic hepatitis C virus infection in a patient with cutaneous vasculitis, cryoglobulinemia, and chronic liver disease. Effective therapy with interferon-alpha. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1221-1225.

SELZNER, M, CAMARGO, CA, CLAVIEN, PA. Ischemia impairs liver regeneration after major tissue loss in rodents: protective effects of interleukin-6. *Hepatology* 1999; 30:469-475.

SHACKLETON, CR. Upregulation of major histocompatibility complex-expression under ischemic conditions in experimental models. *Transplant Proc*, 1998, 30: 4264-4266.

SHEINER, PA. Prostaglandins in liver transplantation. *Hepatology*, 1995, 21 (2): 592-593.

SHERLOCK, S & DOOLEY, J. In: Sherlock, S & Dooley, J, eds, *Diseases of the Liver and Biliary System*. Blackwell Science, Oxford, 1997, pp 651-672.

SILVEIRA, TR. Terapia gênica de distúrbios metabólicos herdados: uma alternativa viável. *J Pediatr (Rio J)* 2000; 76: 97-98.

SINGH, N. Infectious diseases in the liver transplant recipient. American Association for the Study of Liver Diseases. *Postgraduate course: Clinical and pathological correlations in liver disease: approaching the next millennium*, 1998, pp. 136-146.

SNYDMAN, DR. Infection in solid organ transplantation. *Transpl Inf Dis* 1999; 1: 21-28.

SOARES, MR, TAFFE, RE, WAECHTER, FL, ÁLVARES-DA-SILVA, MR. *Aguardando pelo transplante de fígado*. Gráfica HCPA, Porto Alegre, 1999.

SORRELL, M. Transplantation. In: Schiff, ER, Sorrell, MF & Maddrey, WC, eds, *Schiff's Diseases of the Liver*. 8 th edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1999, pp 1587-1588.

SOUTHARD, JH & BELZER, FO. Principles of organ preservation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp. 379-385.

STARZL, TE, DEMETRIS, AJ, TRUCCO, M et al. Systemic chimerism in human female recipient of male livers. *Lancet*, 1992, 340: 876-877.

STARZL, TE. Foreword. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996a, pp. xvii-xviii.

STARZL, TE. History of liver and other splanchnic organ transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996b, pp. 3-22.

STEADMAN, RH & CSETE, M. Complications of liver transplantation. *Semin Anesthesia*, 1996, 15(3): 250-255.

STEER, CJ & KREN, BT. Gene therapy in the next millenium: to boldly go where no one has gone before. American Association for the Study of Liver Diseases. *Postgraduate course: Hepatology into the next millenium: lessons from the past – issues for the future* 1999, pp. 250-263.

STRASBERG, SM. Donor selection and preservation injury: "it all starts here". *Liver Transplant Surg*, 1997, 3(5) Suppl 1, S1-S7.

STROM, SC, CHOWDHURY, JR, FOX, IJ. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease. *Sem Liver Dis* 1999; 19:39-48.

SUCHIRO, T, BOROS, P, EMRE, S, SHEINER, P, GUY, S, SCHWARTZ, ME, MILLER, CM. Assessment of liver graft function by hialuronic acid and endothelin levels. *J Surg Res* 1997; 73: 123-128.

TAKADA, Y, TANIGUCHI, H, FUKUNAGA, K, YUZAWA, K, OTSUKA, M, TODOROKI, T, IIJIMA, T, FUKAO, K. Prolonged hepatic warm ischemia in non-heart beating donors: protective effects of FK506 and a platelet activating factor antagonist in porcine liver transplantation. *Surgery* 1998; 123: 692-698.

TAKAYA, S, DOYLE, H, TODO, S, IRISH, W, FUNG, JJ, STARZL, TE. Reduction of primary nonfunction with prostaglandin E1 after clinical liver transplantation. *Transplant Proc*, 1995, 27: 1862-1867.

TAKEMOTO, Y, UCHIDA, M, NAGASUE, N, OHIWA, K, KIMOTO, T, DHAR, DK, NAKAMURA, T. Changes in calcium content of the liver during hepatic ischemia-reperfusion in dogs. *J Hepatol* 1994; 21: 743-747.

TILLERY, W, DEMETRIS, AJ, WATKINS, D, GOLDSTEIN, R, POPLAWSKI, S, HUSBERG, BS, KLINTMALM, GB. Pathologic recognition of preservation injury in hepatic allografts with six months followup. *Transpl Proc* 1989; 21: 1330-1331.

TOTSUKA, E, FUNG, JJ, URAKAMI, A, MORAS, N, ISHII, T, TAKAHASHI, K, NARUMI, S, HAKAMADA, K, SASAKI, M. Influence of donor cardiopulmonary arrest in human liver transplantation: possible role of ischemic preconditioning. *Hepatology* 2000; 31: 577-580.

TROTTER, JF, WACHS, M, TROUILLOT, T, STEINBERG, T, BAK, T, EVERSON, GT, KAM, I. Evaluation of 100 patients for living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2000; 6: 290-295.

TRZEPACZ, PT, DiMARTINI, A, TRINGALI, R. Psychopharmacologic issues in organ transplantation. *Psychosomatics*, 1993, 34 (3), 199-207.

TURKA, LA. Historical overview. In: Norman, DJ & Suki, WN, eds. *Primer on liver transplantation*. Rochester, 1998, pp.5-6.

UHLMANN, D, SCOMMOTAU, S, WITZIGMANN, H, SPIEGEL, H-U. Exogenous l-arginine protects liver microcirculation from ischemia reperfusion injury. *Eur Surg Res* 1998; 30: 175-184.

UNITED NETWORK FOR ORGAN SHARING. *US facts about transplantation*. UNOS, 2000.

UPADHYA, GA & STRASBERG, SM. Glutathione, lactobionate, and histidine cryptic inhibitors of matrix metalloproteinases contained in University of Wisconsin and Histidine/Tryptophan/Ketoglutarate liver preservation solutions. *Hepatology* 2000; 31: 115-1122.

VALENTIN, J-F, BRUIJN, JÁ, PAUL, LC. Donor treatment with mycophenolate mofetil. Protection against ischemia-reperfusion injury in the rat. *Transplantation* 2000; 69: 344-350.

VERA, SR, RIELY, CA, BURRELL, MI, KOFF, RS. *American Gastroenterological Association Clinical Teaching Project: Liver Transplantation*, 1993, pp. 1-58.

VIEBAHN, R, THOMA, M, KINDER, O, SCHENK, M, LAUCHART, W, BECKER, HD. Analysis of intragraft adhesion molecules and their release in clinical liver transplantation: impact of reperfusion injury. *Transplant Proc*, 1998, 30: 4257-4259.

VIERLING, JM, TEPERMAN, LW, LAKE, JR, PERRILLO, RP, PETERS, M, FRIED, M, SCHIFF, ER. Case studies of the hepatitis B patient: a panel discussion. *Sem Liver Dis* 2000; 20 (Suppl.1):29-35.

VIX, J, COMPAGNOU, P, BELLER, J-P, JAECK, D, WOLF, P, BOUDJEMA, K. Liver grafts can be preserved overnight. *Liver Transpl Surg* 1996; 2: 105-110.

WAGNER, MB. Aspectos básicos da descrição e sumarização de informações em medicina. *J Pediatría* (Rio J) 1998a; 74: 71-76.

WAGNER, MB. Significância com confiança? *J Pediatría* (Rio J) 1998b; 74: 343-346.

WANG, L, FLORMAN, S, ROAYAIE, S, BASILE, J, ZHANG, Z-Y, Machac, J, Boros, P, Miller, CM. Differential in vivo recovery of sinusoidal endothelial cells, hepatocytes, and Kupffer cells after cold preservation and liver transplantation in rats. *Transplantation* 1998; 66:573-578.

WASHBURN, W, JOHNSON, L, LEWIS, W, JENKINS, R. Graft functions and outcome of older (> or = 60 years) donor livers. *Transplantation* 1996; 61: 1062-1066.

WATANABE, FD, ARNAOUT, WS, TING, P, NAVARRO, A, KHALILI, T, KAMOHARA, Y, KAHAKU, E, ROZGA, J, DEMETRIOU, AA. Artificial liver. *Transpl Proc* 1999; 31: 371-373.

WATANABE, FD, MULLON, CJ-P, HEWITT, WR, ARKADOPOULOS, N, KAHAKU, E, EGUCHI, S, KHALILI, T, ARNAOUT, WS, SHACKLETON, CR, ROZGA, J, SOLOMON, B, DEMETRIOU, AA. Clinical Experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure. A phase I clinical trial. *Ann Surg* 1997; 225: 484-494.

WIESNER, RH. Current indications, contraindications, and timing for liver transplantation. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996.

WILKINSON, AH, GONWA, TA, DISTANT, AD. Renal failure in the adult transplant recipient. In: Busuttil, RW & Klintmalm, GB, eds. *Transplantation of the liver*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996, pp.588-595.

WILLET, K, VAZ de MACÊDO, D, DETRY, O, EVANS, A, PEREIRA DA SILVA, L, SLUSE, FE. Mitochondrial oxidative phosphorylation injuries occurring in situ and "in vivo" . *Transpl Proc* 1995; 27: 2827-2828.

WILLIAMS, JW. History of liver transplantation. In: Williams, JW, ed, *Hepatic Transplantation*, WB Saunders Company, Philadelphia, 1990, pp 2-10.

XAVIER-GONZÁLEZ, F, GARCÍA-VALDECASAS, JC, GRANDE, L, PACHECO, JL, CUGAT, E, FUSTER, J, LACY, AM, TAURÁ, P, LOPEZ-BOADO, MA, RIMOLA, A, VISA, J. Vena cava reconstruction during orthotopic liver transplantation: a comparative study. *Liver Transpl Surg* 1998; 4: 133-140.

YAMAMOTO, S, SHIMIZU, K, OONISH, I, HASEBE, K, TAKAMURA, H, INOUE, T, MURAOKA, K, TANI, T. Genistein supresses cellular injury following hepatic ischemia/reperfusion. *Transpl Proc* 1996; 28: 1111-1115.

YIN, D-P, SANKARY, HN, CHONG, AS, MA, L-L, SHEN, J, FOSTER, P, WILLIAMS, JW. Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 1998; 66:152-157.

YOKOYAMA, I, TZAKIS, A, IMVENTARZA, O, TODO, S, CASAVILLA, A, LEGGIO, A, STARZL, TE. Pediatric liver transplantation from neonatal donors. *Transpl Int* 1992; 5: 205-208.

YOO, CH, LEE, CH, PARK, YH. Does congested intestinal blood during liver transplantation affect preservation-reperfusion injury? *Transpl Proc* 1998; 30: 3686-3687.

YOSHIDA, EM & LAKE, JR. Selection of patients for liver transplantation in 1997 and beyond. *Clin Liver Dis*, 1997, 1(2): 247-261.

