

PRESERVAÇÃO DE FÍGADOS HUMANOS COM PERFUSÃO EX-VIVO: UMA VISÃO DO ESTADO DA ARTE

*Overview on the human liver preservation by means of ex-vivo perfusion:
a view of the state-of-the-art*

Samuel Roque Alves¹, Lucas Medeiros Lopes¹ e Ivelise Regina Canito Brasil^{2,3}

RESUMO

SCS (Static Cold Storage) é a técnica mais utilizada para preservação de órgãos. A HMP (Hypothermic Machine Perfusion) foi inicialmente proposta por Belzer, nos anos 1960. A NMP (Normothermic machine perfusion) evita isquemia fria, mantém a função hepática, monitora a função do enxerto em tempo real pelo fluxo de produção de bile. O presente trabalho visa sumarizar estudos de preservação hepática ex-situ e os resultados com diferentes combinações de parâmetros, dando enfoque aos trabalhos com fígados humanos. Realizamos revisão da literatura, selecionamos 73 artigos, sendo 15 revisões de literatura e 58 estudos experimentais. Destes, oito foram realizados em humanos, 12 em porcos e 39 em ratos. Dos oito estudos com fígados humanos, cinco utilizaram HMP, dois utilizaram SNMP e um utilizou NMP. Todos mostraram melhora da função do enxerto e marcadores bioquímicos de lesão. Quanto às soluções utilizadas, a maioria usou a solução UW (University of Wisconsin), enquanto um trabalho utilizou solução de concentrado de hemácias. O tempo de perfusão variou de 30 minutos a 24 horas. A utilização de órgãos critério-expandidos surge como alternativa para pacientes esperando transplante. As máquinas de perfusão estão cada vez mais presentes no contexto do transplante de órgãos sólidos e serão essenciais para redução das filas de espera, fornecendo maior número de enxertos viáveis para transplante. O desenvolvimento de máquinas viáveis e práticas para perfusão de fígados humanos já está se tornando realidade e representa o futuro do transplante de fígado; espera-se que mais modelos e protocolos sejam testados nos próximos anos e passem a ter utilização clínica rotineira.

Descritores: Perfusão; Transplante Hepático; Traumatismo por reperfusão.

INTRODUÇÃO

Instituições:

- ¹ Acadêmicos de Medicina da Universidade Estadual do Ceará
- ² Centro de Ciências da Saúde/Curso de Medicina da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza/CE
- ³ Departamento de Transplante Hepático do Hospital Geral de Fortaleza – Fortaleza/CE.

Correspondência:

Samuel Roque Alves
Tel: (85) 99625-0359
End.: Av. Litorânea 2040, quadra 11 lote 09, Eusébio/CE
Email: samuelroquealves@gmail.com

O primeiro transplante hepático bem-sucedido em humanos deu-se em 1963.¹ Observou-se, desde então, uma crescente demanda por enxertos viáveis para transplante, cuja viabilidade ainda é fortemente limitada por danos de isquemia-reperfusão (IRI- ischemia-reperfusion injury), um processo multifatorial e complexo causado pela depleção de energia durante o processo de armazenamento a frio (isquemia fria) e pela subsequente ocorrência de estresse oxidativo e processos inflamatórios após a revascularização do enxerto (reperfusão).² Nesse sentido, é fundamental o desenvolvimento de novas técnicas que possibilitem melhor viabilidade do enxerto para o transplante.

Recebido em: 13/12/2016

Aceito em: 13/01/2017

É notório o sucesso obtido no desenvolvimento dessas novas técnicas. Esses procedimentos utilizam uma estratégia comum, a fim de se evitarem os danos causados pela isquemia, que consiste no rápido resfriamento do órgão com uso de soluções de preservação para minimizar a atividade enzimática e a depleção do substrato energético.²

Atualmente, a solução UW (University of Wisconsin) é a mais amplamente utilizada no transplante hepático.¹ Contudo, o alto peso molecular dos componentes resulta em maior viscosidade, acarretando baixa distribuição da solução pelo parênquima hepático e espaço intravascular, o que leva a potenciais danos ao enxerto.^{1,3} Olschewski et. al (2008) apontam que a solução histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) apresenta cerca de um terço da viscosidade da UW e que o uso combinado de ambas soluções a 4°C apresenta resultado superior na manutenção da microcirculação hepática, quando comparado ao uso individual de cada uma das soluções.

O SCS (Static Cold Storage) é a técnica mais utilizada para preservação de órgãos em transplantes no mundo, devido principalmente ao seu baixo custo e à relativa facilidade técnica para sua implementação.^{2,4} Há contudo limitações dessa técnica no que concerne à manutenção da efetiva oxigenação e da adequada difusão de nutrientes.⁴

No contexto atual da crescente escassez de órgãos e aumento do tempo de espera nas listas de transplante é essencial que as perdas de enxerto por IRI sejam minimizadas; além disso, a utilização de órgãos critério-expandidos surge como última alternativa ainda que polêmica para pacientes em listas de espera. Entretanto, o uso desse tipo de enxerto, bem como a minimização das perdas está condicionado ao emprego de técnicas ainda mais eficazes de preservação capazes de recondicionar o órgão para que fique viável ao transplante, a exemplo das máquinas de perfusão ex-vivo em suas várias conformações já bastante utilizadas no transplante renal.

O termo 'máquina de perfusão' é bem amplo, envolvendo um espectro de técnicas que têm o mecanismo de perfusão como denominador comum. A configuração das máquinas de perfusão depende essencialmente de três parâmetros: duração de aplicação, temperatura da perfusão e pressão de perfusão.⁵ As máquinas de perfusão mostram-se estatisticamente superiores em relação à SCS na manutenção da viabilidade dos enxertos. Ademais, durante o processo de perfusão com uso da máquina de perfusão é possível avaliar a viabilidade do órgão por meio de diversos parâmetros (ALT, AST, lactate dehydrogenase and β -galactosidase, glutathione-S-transferase, glutamate dehydrogenase,

hyaluronic acid, liver glutathione, alanine and histidine, measurement of hepatic vascular resistance).^{1,6,7}

A HMP (Hypothermic Machine Perfusion) foi inicialmente proposta por Belzer, no início da década de 1960.¹ Essa máquina pode prolongar o tempo de preservação de rins em um período de 48-72 horas.^{4,8,9} A HMP reduz significativamente a expressão de marcadores de IRI (que incluem a expressão de citocinas pró-inflamatórias, de moléculas de adesão e de fatores de migração de leucócitos). Todavia, ainda se observam danos endoteliais dos enxertos submetidos à HMP.¹

A NMP (Normothermic machine perfusion) é um tipo de máquina de perfusão que fornece oxigênio e outros substratos metabólicos sob condições normotérmicas (entre 36 e 37,5 °C).¹ A NMP evita isquemia fria, mantém a função hepática, monitora a função do enxerto em tempo real pelo fluxo de produção de bile, permitindo assim grande viabilidade clínica.⁸

A utilização das máquinas de perfusão ainda está em fase investigativa para transplante de fígado em humanos. Contudo, já existem estudos avaliando a viabilidade técnica desses novos protocolos, tendo sido realizado em 2009 o primeiro ensaio clínico de transplante de fígado submetido à HMP. Antes disso, o transplante bem sucedido de fígados preservados com HMP só havia sido relatado em modelos animais.⁹ Esse estudo abriu as portas para o delineamento de outros ensaios clínicos envolvendo máquinas normotérmicas e subnormotérmicas, todos atestando os benefícios que a perfusão ex-vivo proporciona aos órgãos e, conseqüentemente, aos pacientes.^{8,10-14}

Justificativa

A escassez de órgãos para transplante torna necessário o uso de órgãos critério-expandido e requer o desenvolvimento de técnicas mais eficazes de preservação. As máquinas de perfusão surgem nesse contexto em suas mais variadas conformações. Tendo em vista o grande espectro de parâmetros das máquinas de perfusão e a importância dos estudos realizados com órgãos humanos para introdução dessas técnicas na prática médica, o presente trabalho visa sumarizar os estudos realizados com órgãos humanos, destacando os resultados com diferentes combinações de parâmetros.

MÉTODO

Trata-se de revisão integrativa da literatura por meio de busca nas bases eletrônicas de dados Pubmed e Periódicos CAPES. Os descritores em inglês utilizados foram: "machine perfusion" e "liver preservation". Foram selecionados 73 trabalhos, incluindo artigos de revisão,

estudos experimentais, além de estudos clínicos em humanos. Apenas trabalhos de língua inglesa foram incluídos.

RESULTADO

Foram selecionados 73 artigos, sendo 15 revisões de literatura e 58 estudos experimentais. Desses, oito foram realizados em humanos, 12 em porcos e 39 em ratos.

Dos 58 estudos experimentais, 40 utilizaram exclusivamente HMP, sete utilizaram somente SNMP, enquanto três associaram o uso de HMP e SNMP. Dois estudos fizeram uso exclusivo de NMP e somente um fez uso de HMP e NMP. Ademais, tem-se que quatro estudos associaram VSOP e HMP. Considerando-se apenas os oito estudos realizados com fígados humanos, cinco utilizaram HMP, ao passo que dois utilizaram SNMP e um utilizou NMP.

Dos oito estudos realizados em fígados humanos, todos concluíram que há benefício na utilização de máquinas de perfusão no que concerne à melhora da função do enxerto e atenuação de marcadores bioquímicos de lesão.

Quanto à via de perfusão, 42 estudos utilizaram a veia porta, enquanto 13 optaram por perfusão dupla com a veia porta e a artéria hepática, dois fizeram comparação entre a veia porta e a artéria hepática e apenas um perfundiu somente pela artéria hepática. Tomando em consideração somente estudos realizados em fígados humanos, seis utilizaram artéria hepática e veia porta, ao passo que três utilizaram somente a veia porta com via de perfusão.

Quanto às soluções de perfusão, dos 58 ensaios, 11 utilizaram HTK, 28 utilizaram solução UW, enquanto dois fizeram uso da solução Willian Medium E, cinco de KH, três de Polysol, um de Lfor e um de Ringer Lactato. Ademais, um estudo utilizou concentrado de hemácias e plasma fresco e um trabalho utilizou sangue como solução de preservação. Comparações de soluções foram feitas em poucos estudos; três utilizaram HTK e Belzer, enquanto outros comparam a solução UW original com soluções à base dela. Um estudo não especificou a solução utilizada. Dos oito estudos em fígados humanos, a grande maioria optou por perfundir o fígado com a solução de Belzer.

Quanto ao tempo de perfusão, um estudo realizou perfusão por 48 horas, um por 40 horas, 18 por 24 horas, um por 20 horas, seis por 18 horas, três por 10 horas, sete por seis horas, cinco por cinco horas, três por três horas, cinco por duas horas, um por uma

hora e um por 30 minutos. Ademais, um estudo realizou a perfusão em um intervalo de tempo de 30 minutos a três horas, ao passo que um realizou durante um intervalo de quatro até sete horas e dois durante três a sete horas.

Um estudo comparou as perfusões realizadas a 24 e a 48 horas e um ensaio comparou as perfusões realizadas nos tempos de 0, 24 e 48 horas. Considerando-se apenas os oito estudos realizados em fígados humanos, cada um dos trabalhos realizou a perfusão em tempos diferentes que variam de 30 minutos até 24 horas.

DISCUSSÃO

Com a crescente escassez de órgãos e aumento do tempo de espera nas listas de transplante, é essencial que as perdas de enxertos por IRI sejam minimizadas; além disso, a utilização de órgãos critério-expandidos, ou seja, fígados provenientes de doação pós-parada cardíaca, fígados esteatóticos e fígados de doadores com idade avançada surge como alternativa para pacientes esperando transplante.¹⁻⁴

No entanto, a melhor preservação hepática, bem como a utilização de enxertos critério-expandidos está fortemente atrelada às novas técnicas de preservação que utilizam a perfusão ex-vivo com diferentes soluções e temperaturas, visando alcançar o melhor estado de conservação.⁵⁻⁷

Apesar dos questionamentos existentes quanto à necessidade de baixas temperaturas, observa-se ainda predominância de estudos com perfusão hipotérmica utilizando diferentes tipos de solução por períodos variáveis. Contudo, há uma clara tendência a favor dos estudos com temperaturas mais elevadas, que reduzem os danos endoteliais promovidos pela hipotermia e fornecem meio de preservação mais fisiológico.^{8,10-14}

Talvez pela maior complexidade do fígado, a perfusão ex-vivo com enxertos humanos ainda não está tão avançada quanto a perfusão renal. Guarrera et al. realizaram um dos primeiros estudos de preservação de fígados humanos com máquina de perfusão hipotérmica, no qual 20 pacientes da lista de transplante que receberam fígados perfundidos com a solução Vasosol® foram comparados a um grupo equivalente, que recebeu fígados preservados pela CS.¹¹ Os pacientes do grupo HMP apresentaram níveis reduzidos de marcadores bioquímicos relacionados à lesão de preservação. Segundo Guarrera et al., um dos obstáculos à implementação da perfusão hepática na prática médica é a dificuldade de se obter um sistema portátil de fácil manuseio pelas equipes de transplante. No estudo em

questão, esse desafio foi contornado pela realização da HMP no mesmo local e em concomitância com a preparação e hepatectomia do receptor, o que facilita a técnica e diminui a necessidade da portabilidade do sistema.^{9,11}

CONCLUSÃO

As máquinas de perfusão em suas diversas conformações, estão cada vez mais presentes no contexto do transplante

de órgãos sólidos e serão essenciais para a redução das filas de espera, fornecendo maior número de enxertos viáveis para transplante. Ainda não há consenso quanto à necessidade da dupla perfusão do fígado (VP e AH), nem quanto à temperatura ideal de perfusão, embora haja interesse crescente pela perfusão com temperaturas mais elevadas. O desenvolvimento de máquinas viáveis e práticas para perfusão de fígados humanos já está se tornando realidade e representa o futuro do transplante de fígado; espera-se que mais modelos e protocolos sejam testados nos próximos anos.

ABSTRACT

SCS (Static Cold Storage) is the gold standard for organ preservation, while HMP (Hypothermic Machine Perfusion) was initially proposed by Belzer in the 60's. NMP (Normothermic Machine Perfusion) avoids cold ischemia, preserves and monitors graft function in real time by assessing bile production. The present work aims to summarize studies with human organs and their outcomes by using various parameters. A review of the literature was made and 73 articles were collected; 15 were literary reviews, and 58 were experimental trials, from which eight using human organs, 12 used porcine, and 39 used rat organs. From the eight works with human livers, five used HMP, while two used SNMP and one used NMP, all of which showed an improvement in the graft function and lesion assessment markers. As to the solutions for preservation, the majority used the UW (University of Wisconsin) solution, while only one used a red blood cell-based solution. The duration of perfusion varied from 30 minutes to 24 hours. The use of extended criteria organs might be an alternative for patients awaiting transplantation. Perfusion machines and their several settings are increasingly present in the solid organ transplant context, and it will be decisive to reduce the waiting lists for transplants. The development of practical perfusion machines for human organs is becoming a reality, and it represents the future for liver transplantation. An ever-growing amount of models and protocols are forecasted in the following years.

Keywords: Perfusion; Liver transplantation; Ischemia Reperfusion Injury.

REFERÊNCIAS

1. Jia JJ, Li JH, Jiang L, Lin BY, Wang L, Su R, et al. Liver protection strategies in liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2015;14(1):34–42.
2. Bejaoui M, Pantazi E, Folch-Puy E, Baptista PM, García-Gil A, Adam R, et al. Emerging concepts in liver graft preservation. *World J Gastroenterol*. 2015;21(2):396–407.
3. Latchana N. Preservation solutions used during abdominal transplantation: Current status and outcomes. *World J Transplant* [Internet]. 2015;5(4):154. Available from: <http://www.wjgnet.com/2220-3230/full/v5/i4/154.htm>
4. Suszynski TM, Rizzari MD, Scott WE, Tempelman LA, Taylor MJ, Papas KK. Persufflation (or gaseous oxygen perfusion) as a method of organ preservation. *Cryobiology* [Internet]. Elsevier Inc. 2012;64(3):125–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2012.01.007>
5. Weeder PD, Van Rijn R, Porte RJ. Machine perfusion in liver transplantation as a tool to prevent non-anastomotic biliary strictures: Rationale, current evidence and future directions. *J Hepatol* [Internet]. European Association for the Study of the Liver. 2015;63(1):265–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.03.008>
6. Vekemans K, Liu Q, Pirenne J, Monbaliu D. Artificial circulation of the liver: Machine perfusion as a preservation method in liver transplantation. *Anat Rec*. 2008;291(6):735–40.
7. Nebrig M, Neuhaus P, Pascher A. Advances in the management of the explanted donor liver. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. Nature Publishing Group. 2014;11(8):489–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/rgastro.2014.58>
8. Op Den Dries S, Karimian N, Sutton ME, Westerkamp AC, Nijsten MWN, Gouw ASH, et al. Ex vivo normothermic machine perfusion and viability testing of discarded human donor livers. *Am J Transplant*. 2013;13(5):1327–35.
9. Guarrera J V., Henry SD, Samstein B, Odeh-Ramadan R, Kinkhabwala M, Goldstein MJ, et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: The first clinical series. *Am J Transplant*. 2010;10(2):372–81.
10. Bruinsma BG, Sridharan G V., Weeder PD, Avruch JH, Saeidi N, Özer S, et al. Metabolic profiling during ex vivo machine perfusion of the human liver. *Sci Rep* [Internet]. Nature Publishing Group. 2016;6(September 2015):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep22415>
11. Guarrera J V., Henry SD, Samstein B, Reznik E, Musat C, Lukose TI, et al. Hypothermic machine preservation facilitates successful transplantation of “orphan” extended criteria donor livers. *Am J Transplant*. 2015;15(1):161–9.
12. Guarrera J V., Henry SD, Chen SWC, Brown T, Nachber E, Arrington B, et al. Hypothermic machine preservation attenuates ischemia/reperfusion markers after liver transplantation: Preliminary results. *J Surg Res* [Internet]. Elsevier Ltd. 2011;167(2):e365–73. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/j.jss\(1\).2010.01.038](http://dx.doi.org/10.1016/j.jss(1).2010.01.038)
13. Monbaliu D, Liu Q, Libbrecht L, De Vos R, Vekemans K, Debbaut C, et al. Preserving the morphology and evaluating the quality of liver grafts by hypothermic machine perfusion: a proof-of-concept study using discarded human livers. *Liver Transpl*. 2012;18(12):1495–507.
14. Bruinsma BG, Avruch JH, Weeder PD, Sridharan G V., Uygun BE, Karimian NG, et al. Functional Human Liver Preservation and Recovery by Means of Subnormothermic Machine Perfusion. *J Vis Exp* [Internet]. 2015;(98):1–5. Available from: <http://www.jove.com/video/52777/functional-human-liver-preservation-recovery-means-subnormothermic>