

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA
DOUTORADO

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA
REJEIÇÃO APÓS TRANSPLANTE
HEPÁTICO.**

ANTONIO NOCCHI KALIL

Porto Alegre, RS, 1995.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA
DOUTORADO

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA REJEIÇÃO APÓS
TRANSPLANTE HEPÁTICO**

ANTONIO NOCCHI KALIL

Orientador: Prof. Luiz Pereira-Lima (UFRGS)
Co-orientadores: Prof. Henri Bismuth (Université Paris XI)
Dr. Olivier Farges (Université Paris XI)

**Tese apresentada ao Curso de
Pós - Graduação em Medicina:
Clínica Médica da UFRGS, para
obtenção do título de DOUTOR.**

Porto Alegre, RS, 1995.

A Iracema, com quem divido com amor meus planos de vida, pelo estímulo constante as minhas atividades profissionais e por seu companheirismo em todos os momentos.

A minha mãe, Maria do Carmo, por seu amor e doação inigualáveis, e por sua participação fundamental em todas as fases de minha vida.

A meu pai, Antonio Fued Kalil, que continua fazendo parte de tudo, por sua presença marcante em minha memória.

A meu tio, Michel Kalil, cujo exemplo de médico e ser humano altruísta, certamente influenciou minha formação.

A meus irmãos, Rosane, Ricardo e Regina, por nossa união em todas as horas e pelo apoio e vibração com minha carreira.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Pereira-Lima, com quem convivo há mais de 10 anos, não somente pelo aprendizado constante, mas também pela amizade sólida que nos une e que certamente já se trata de um laço familiar. Sem dúvida sua trajetória muito me influenciou, pois foi baseada exclusivamente em méritos intelectuais. Acompanhei o seu doutoramento, alíás o primeiro cirurgião Doutor em nosso meio, quando era seu residente, e estou muito feliz por sua orientação neste momento. Tal orientação, não se restringe apenas à esta Tese, pois foram seus conselhos e atitudes que me levaram a entrar no mundo acadêmico. Mais importante que tudo, entretanto, foi a orientação técnica e teórica em cirurgia que me brindou e que hoje me possibilita ter uma postura científica honesta. Ao meu mestre, meu agradecimento leal e sincero, por tudo.

Ao Prof. Dr. Henri Bismuth, pela honra de me receber em seu mundialmente conhecido Serviço, certamente o pioneiro nesta nova especialidade que surge, e que trata das afecções hépato-bilio-pancreáticas. Ter sido seu aluno, seu auxiliar e participar de trabalhos com sua co-autoria, são fatos que ficarão eternamente gravados em mim.

Ao meu amigo e cientista brilhante, Dr. Olivier Farges, com quem trabalhei mais amiúde durante o período de estudos na França, pelos vários trabalhos que realizamos juntos, e pelos valiosos ensinamentos em transplante hepático, e por sua co-orientação nesta Tese.

Aos demais médicos do Hôpital Paul-Brousse, que me propiciaram adquirir conhecimentos em hepatologia cirúrgica, em particular aos Drs. René Adam, Daniel Azoulay, Denis Castaing, Didier Samuel, Faouzi Saliba e Marc Johan.

Aos patologistas Myléne Sebah e Prof. Michel Reynés, que dispensaram tempo valioso na análise e revisão de lâminas, sem tal auxílio seria impossível a realização deste estudo.

A Srta. Valéria Bica Calderan, pela valiosa e fundamental colaboração na confecção deste trabalho.

Aos estatísticos Monsieur Massot, na França, e Jandira Fachel, no Brasil, pelo auxílio na análise dos dados.

A acolhida do CPG em Medicina: Clínica Médica, especialmente aos Professores Drs. Jorge Luiz Gross e Ellis Busnello, e as secretárias, Débora Campos Velho e Helena Beatriz Costa pela atenção e carinho com que sempre me atenderam.

A CAPES, pelo auxílio importante durante o período de coleta de dados na França, em especial a Sra. Joana d'Arc Gonçalves, que tratou diretamente de minha bolsa.

Aos meus colegas do Departamento de Cirurgia, aos residentes e alunos da Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, pelo estímulo.

A Santa Casa de Porto Alegre, onde aprendi, ensino e continuo a aprender a arte da cirurgia.

ÍNDICE

	ABREVIACÕES	5
	RESUMO / SUMMARY	7
1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS	38
3.	CASUÍSTICA E MÉTODOS	40
4.	RESULTADOS	56
5.	DISCUSSÃO	100
6.	CONCLUSÕES	120
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

ABREVIACÕES

ABREVIACÕES

- AZT** - Azatioprina
CMV - Citomegalovírus
CSP - Colangite esclerosante primária
GAT - Globulina anti-timocítica
GGT - Gamaglutamil transpeptidase
HLA - Antígenos leucocitários humanos
IgM - Imunoglobina M
OKT3 - Anticorpos monoclonais
OR - "Odds ratio", razão de chances
PCR - Reação em cadeia de polimerase
PFH - Provas de função hepática
RC vascular - Rejeição crônica vascular
ReTH - Retransplante hepático
RHA - Rejeição hiperaguda
RR - Risco relativo
SAL - Soro antilinfocitário
TAH - Trombose da artéria hepática
TH - Transplante hepático
TVP - Trombose da veia porta
VBDS - "Vanishing bile duct syndrome", Rejeição ductopênica

RESUMO / SUMMARY

RESUMO

No período de 1984 a 1992, 707 transplantes de fígado foram analisados com o objetivo de detectar fatores prognósticos de rejeição crônica. Do grupo total, 550 preenchem os critérios para análise. A incidência de rejeição crônica neste grupo foi de 7,8 % (43 pacientes). A síndrome de rarefação de canais biliares (VBDS) ocorreu em 27 doentes (4,9%), e a rejeição crônica vascular foi observada em 16 pacientes (2,9%).

Também foi notada uma associação maior que a esperada entre rejeição crônica tipo VBDS e as seguintes variáveis: TH por insuficiência hepática aguda ($p = 0,009$), rejeição clínica após o 20º dia do TH ($p = 0,001$), recidiva tardia de rejeição aguda ($p = 0,01$), resistência ao tratamento com corticóides no 1º episódio de rejeição aguda ($p = 0,05$) e ao OKT3 ($p = 0,00007$), e infecção por CMV sintomática ($p = 0,01$).

Uma associação menor que a esperada de VBDS foi observada em indivíduos transplantados por cirrose pós-hepatite ($p = 0,02$), na presença de sensibilidade ao tratamento com corticóide no 1º episódio de rejeição aguda ($p = 0,05$), na ausência de recidiva de rejeição aguda ($p = 0,003$) e quando ocorreu rejeição assintomática ($p = 0,00002$).

Em relação a rejeição crônica vascular, observou-se uma associação menor que a esperada com as variáveis rejeição assintomática ($p = 0,03$), sensibilidade ao tratamento com corticóides no 1º episódio de rejeição aguda ($p = 0,03$) e ausência de recidiva desta ($p = 0,002$). Uma associação maior que a esperada ocorreu apenas com a variável resistência ao tratamento com OKT3 ($p = 0,0007$).

No mesmo período, 43 transplantes com enxertos incompatíveis foram realizados. A sobrevida a 1 e 5 anos dos pacientes foi de 52% e 50%, e dos enxertos de 30% e 20% respectivamente. Ainda que a sobrevida dos pacientes seja menor que nos TH compatíveis, não há diferença estatística.. A sobrevida dos enxertos, entretanto, é bem menor ($p = 0,0002$) quando comparada aos enxertos compatíveis.

A incidência de rejeição hiperaguda é elevada (20% com biópsia), assim como o desenvolvimento de complicações biliares ou vasculares (56%) neste grupo de pacientes.

Em relação ao regime imunoprolático, a adição de SAL está associado com redução da incidência de rejeição ($p = 0,04$) e aumento das complicações sépticas. O aumento da incidência de rejeição hiperaguda está associada com a introdução retardada de SAL ($p = 0,013$) ou ciclosporina ($p = 0,037$).

A utilização de plasmaferese está associada com uma incidência maior de complicações sépticas ($p = 0,02$). Nesta série, o retransplante tardio por complicações biliares ou vasculares, teve evolução favorável, sendo que todos os pacientes assim tratados estão vivos e bem, com acompanhamento entre 1 e 5 anos.

SUMMARY

From 1984 to 1992, 707 liver transplantations were analyzed with the aim of to detect prognostic factors of chronic rejection. Of the total group, 550 grafts were selected to this study. The incidence of chronic rejection was 7,8% (43 patients). VBDS was observed in 27 patients (4,9%) and chronic vascular rejection in 16 (2,9%).

An association greater than expected was observed between VBDS and the following variables: liver transplantation for fulminant hepatic failure ($p = 0,009$), clinical acute rejection after day 20 ($p = 0,001$), late recidive of acute rejection ($p = 0,01$), corticoresistance ($p = 0,05$), OKT3 - resistance ($p = 0,0007$) and symptomatic CMV infection ($p = 0,01$).

An association smaller than expected was observed between VBDS and liver transplantation for post-hepatitis cirrhosis ($p = 0,02$), in corticosensible patients ($p = 0,05$), in patients with no recurrence of acute clinical rejection ($p = 0,003$) and in asymptomatic rejection ($p = 0,00002$).

Regarding chronic vascular rejection, an associaton smaller than expected was observed with assymptomatic rejection ($p = 0,03$), in corticosensible patients ($p = 0,03$) and in patients with no recurrence of clinical rejection ($p = 0,002$). An association greater than expected was only observed with OKT3 - resistance ($p = 0,0007$).

In the same period, 43 transplants with incompatible grafts were performed. Patient survival was 52% at 1 year and 50% at 5 years, and graft survival rates were 30% and 20% respectively.

There is no statistical difference between patient survival with compatible and incompatible liver, but an important difference was observed in graft survival, when compared to compatible grafts ($p = 0,0002$).

The incidence of hyperacute rejection was 20% (with biopsy), and vascular or biliary complications were developed in 56% of the patients in this group.

With reference to immunoprophylaxis, the SAL therapy was associated with reduction of the rejection episodes ($p = 0,04$) and more septic complications. The delayed introduction of either SAL ($p = 0,013$) or ciclosporine ($p = 0,037$) were associated with more episodes of hyperacute rejection.

Plasmapheresis was associated with more septic complications ($p = 0,02$). In this group, patients retransplanted late for biliary or vascular complications were alived and well, with 1 - 5 years follow-up.

1 . INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais

A idéia de transplantar partes do corpo não é nova e há séculos fascina o homem. Nos anos 700 antes de Cristo, os hindus já realizavam transplantes de pele. O místico médico chinês Pien Ch'iao referiu a troca dos corações de dois homens, e ambos sobreviveram após receberem drogas milagrosas no século XIX.

No início do século XX, Alex Carrel idealizou e realizou inúmeros transplantes em animais e acabou recebendo o Prêmio Nobel de Medicina por estes trabalhos. Durante a primeira metade deste século, as pesquisas eram mais dirigidas ao transplante renal. A partir do início dos anos 50, com o sucesso obtido em vários pacientes transplantados, este método passou a ser visto como uma alternativa terapêutica real e estimulou a possibilidade de transplantar outros órgãos.

A segunda metade do século XX observou inúmeros avanços no campo da hepatologia, nenhum, entretanto, foi tão importante quanto o sucesso do transplante hepático em humanos, agora realizado em escala mundial. Para isso, foi necessário o desenvolvimento de diversas áreas da Medicina, que incluiu novas técnicas cirúrgicas, o conhecimento de mecanismos imunitários relacionados à rejeição do enxerto, o desenvolvimento da terapia imunossupressora, soluções para prolongar a preservação de órgãos, a prevenção e combate às infecções, e a capacidade de atrair um número adequado de doadores e selecionar os receptores que mais se beneficiariam.

As primeiras tentativas de transplante hepático foram realizadas em cães e envolvia a colocação de um segundo fígado como transplante auxiliar ou heterotópico (STARZL et al, 1970). Esses enxertos atrofiavam, como resultado provavelmente da rejeição, suprimento sanguíneo inadequado e diminuição de fatores tróficos originados principalmente do pâncreas. Entretanto, quando o fígado nativo estava doente ou uma grande porção deste havia sido removida, os enxertos duravam mais tempo. Estas observações levaram a recente reintrodução dos transplantes auxiliares como uma medida alternativa, enquanto se aguarda um doador ou ainda pela recuperação do fígado nos casos de insuficiência hepática aguda (BLANKESTEIN JN, et al, 1992; SHAW Jr., et al 1993). Os primeiros transplantes hepáticos ortotópicos experimentais com sucesso foram realizados em cães, nos laboratórios de MOORE (1959) em Boston, e STARZL (1960) em Chicago. Este último realizou o primeiro transplante hepático ortotópico em humanos em março de 1963 (STARZL et al, 1963) e durante os quatro anos que se seguiram efetuou um total de sete (STARZL et al, 1970). Nenhum desses pacientes sobreviveu mais de 23 dias. No início de julho de 1967, e nos treze meses subsequentes, este mesmo cirurgião realizou mais quatorze transplantes, e onze desses indivíduos sobreviveram mais de um mês. Enquanto a recorrência da doença maligna e as dificuldades com as anastomoses biliar e vascular eram responsáveis pela maioria das complicações pós-operatórias, uma nova entidade começou a aparecer: a rejeição crônica, que era indolente mas rapidamente progressiva. O avanço da imunossupressão data de 1958, quando MURRAY et al (1960) empregaram a irradiação corporal total após transplante renal em gêmeos idênticos, com sucesso a longo prazo. CALNE et al. (1962), demonstraram a utilidade da mercaptopurina em prolongar a sobrevivência de enxertos após transplante renal em cães, e logo após, um de seus derivados, a azatioprina era utilizada clinicamente. MURRAY et. al. (1981) rapidamente passaram a utilizar a associação de esteróides

e azatioprina. O soro antilinfocitário (SAL) foi introduzido na década de 60 em adição a esta terapia combinada, com objetivo de reverter os episódios de rejeição aguda, mas os inúmeros efeitos colaterais, como trombocitopenia, leucopenia, reações alérgicas e a produção de anticorpos anti-SAL limitaram seu uso. Assim, ficava evidente que a utilização de azatioprina e soro antilinfocitário era inadequada como terapia imunossupressora. Foi graças à utilização da ciclosporina (CALNE et al., 1979) que aconteceu a retomada em grande escala dos transplantes de órgãos, com melhora considerável dos resultados. O incrível aumento do número de transplantes de fígado na última década levou ao aparecimento de um novo capítulo na patologia hepática, que estuda alterações estruturais causadas pela rejeição do enxerto (DEMETRIS et al, 1990). Também os detalhes imunológicos da rejeição estão agora sendo elucidados e, ainda mais importante, a rejeição está melhor controlada farmacologicamente.

Alguns enxertos jamais funcionam e o paciente permanece em fase anepática no pós-operatório. A falência primária do enxerto pode ter várias causas, poucas têm sido elucidadas em casos individuais. As razões desta disfunção podem ser uma preservação inadequada do órgão, problemas vasculares prejudicando o aporte sanguíneo, trauma, fatores farmacológicos adversos no doador ou receptor, e talvez uma resposta imunitária imediata do receptor, ou seja, rejeição (YAMAGA et al., 1990; KAKIZOE et al., 1990).

Durante muito tempo o problema da rejeição após transplante hepático (TH) pareceu secundário. Isso se devia ao fato de que alguns trabalhos experimentais, em um certo período, fizeram pensar que o fígado era menos sensível à rejeição que outros órgãos, e seria suscetível de gerar uma tolerância quando da associação de transplantes de órgãos provenientes do mesmo doador (HOUSSIN et al., 1985;

KAMADA., 1985). Vários argumentos experimentais faziam concordar com o acima exposto:

- 1) a existência de transplantes alogênicos de ratos, viáveis sem a necessidade de imunossupressão em certas combinações;
- 2) a rejeição hiperaguda era considerada como impossível de acontecer;
- 3) o fato do fígado promover uma tolerância específica do doador e facilitar a aceitação pelo hospedeiro de um transplante de coração ou de pele;
- 4) além disso, no homem, os transplantes de fígado são realizados unicamente em compatibilidade de grupo sanguíneo ABO, sem levar em consideração a compatibilidade HLA entre doador e receptor e, finalmente, o fato de que TH foram realizados com sucesso, mesmo em presença de uma prova cruzada positiva ou em grupo sanguíneo ABO incompatível (IWATZUKI et al., 1981; GORDON et al., 1986).

É válido salientar que no início do TH, a importância das complicações pós-operatórias e sépticas mascararam os fenômenos de rejeição (BISMUTH & SAMUEL, 1993). Atualmente, com a melhora considerável dos resultados destes transplantes (BISMUTH et al., 1987; STARZL et al., 1989a, 1989b) e a diminuição da morbidade pós-operatória, apareceu em um plano principal o problema da rejeição do enxerto. BACKMAN et al. (1993) relatam uma sobrevida atuarial aos 2 e 5 anos de 91% e 83%, respectivamente, cifras corroboradas por outros grupos (European Liver Transplant Registry, 1993).

No plano experimental, a rejeição hiperaguda pôde ser comprovada no final dos anos 80 (KNECHTLE et al., 1987; MERION & COLLETTI, 1990). A partir daí, casos de rejeição aguda irreversíveis conduzindo a retransplante foram relatados e,

além disso, observou-se que o TH em grupo sanguíneo incompatível também pode ser responsável por rejeições hiperagudas (HANTO et al., 1987; DEMETRIS et al., 1988; GUGENHEIM et al., 1990). A rejeição crônica após TH é geralmente considerada uma condição irreversível, caracterizada por destruição dos ductos biliares associada a uma vasculopatia obliterativa envolvendo artérias de tamanho médio e grande (VIERLING & FENNEL, 1985; GROND et al., 1986; WHITTE et al., 1987; SNOVER et al., 1987; DEMETRIS et al., 1987). O resultado é uma síndrome de colestase progressiva, que é geralmente resistente à imunossupressão e resulta na perda do enxerto. No início desta década, algumas publicações referiram a possibilidade de resolução espontânea deste quadro (HUBSCHER et al., 1991b, 1991c; NOACK et al., 1991), fato ainda não aceito pela maioria dos autores.

A subdivisão de rejeição em suas formas aguda e crônica é baseada no tempo em que ocorre, mas principalmente em suas características histo-patológicas. Vários outros termos têm sido utilizados na literatura para descrever rejeição crônica após TH. Ainda que estas alternativas de classificação ofereçam vantagens teóricas, nenhuma é considerada totalmente satisfatória. Apesar de suas limitações, os termos rejeição aguda e crônica, permanecem amplamente utilizados, e serão empregados neste texto. É difícil saber se rejeição aguda e crônica são processos diferentes, que apresentam características clínico-patológicas que se superpõem, ou se representam diferentes respostas de um amplo espectro imunitário do enxerto hepático.

A incidência de rejeição crônica varia dependendo do centro, mas tem sido estimada entre 5% e 20% (DEMETRIS et al., 1985; LUDWIG et al., 1987; O'GRADY et al., 1988). De 11 séries revisadas por WIESNER et al. (1991), a incidência variou de 2,4% a 16,8%. Do total de 1401 transplantes nestes 11 centros, 111 desenvolveram rejeição crônica, com uma incidência global de 7,9%.

HUBSCHER et al. (1991) referem perda de 36 de 441 enxertos (8,2%) como resultado de rejeição crônica, acompanhados por um período mínimo de 12 meses. A rejeição crônica é a causa mais comum de perda do enxerto em pacientes que sobrevivem ao pós-operatório imediato do TH, resultando em mais de 50% das perdas tardias dos enxertos (SHAW et al., 1985; OGUMA et al., 1989). Além disso, a rejeição crônica é relatada por representar a mais freqüente indicação de retransplante em alguns centros (SHAW et al., 1985). Alguns fatores são responsáveis pela grande variação nas incidências relatadas de rejeição crônica. A maioria das séries não podem ser comparadas diretamente, já que alguns estudos referem a incidência de rejeição crônica em transplantes primários, enquanto outros, em transplantes e retransplantes. Além disso, algumas séries excluem casos de rejeição crônica resultando em perda do enxerto nos primeiros três meses após o transplante, enquanto outras somente relatam pacientes que sobreviveram mais de três meses após o TH (O'GRADY et al., 1988). Um outro fator poderia ser o declínio na incidência de rejeição crônica como resultado de alterações no tratamento imunossupressor. Na série da Universidade de Wisconsin, nenhum paciente desenvolveu rejeição crônica após a introdução da azatioprina ao regime imunossupressor (PIRSCH et al., 1990), e na série da Mayo Clinic, a incidência de rejeição crônica foi reduzida de 21% para 1% no grupo tratado com azatioprina (VAN HOEK et al., 1991). Outros grupos (PICHLMAYR & GUBERNATIS, 1987; LOWES et al., 1993) referem uma diminuição na incidência de rejeição crônica com o tempo, mas as razões deste declínio não são claras, em especial porque não houve mudanças nos protocolos de imunossupressão destas equipes. Alguns estudos demonstraram uma incidência mais baixa de rejeição em pacientes tratados com imunossupressão tripla ou quádrupla comparadas com aqueles com terapia dupla (KLINTMALM et al., 1989; PIRSCH et al., 1990; VAN HOEK et al., 1991).

A apresentação clínica típica da rejeição crônica é icterícia progressiva associada com alterações importantes das provas de função hepática. Estas características clínicas e bioquímicas não são específicas da rejeição crônica e, portanto, não podem ser distinguidas de outras causas de colestase após TH, como obstrução biliar, sepse e infecção viral (WIGHT, 1986; LUDWIG et al., 1990). O diagnóstico definitivo é ainda dependente do exame histológico. Existem duas características histológicas principais que são geralmente observadas no diagnóstico da rejeição crônica. A primeira verifica destruição progressiva dos ductos biliares inter-lobulares, sem evidência de isquemia ou necrose hepatocelular. Uma segunda característica histológica é caracterizada por isquemia progressiva que envolve primariamente os hepatócitos acompanhada de lesão ductal severa. Esta lesão está associada a uma vasculopatia obliterativa envolvendo artérias de tamanho médio e grande. Este grupo pode ser claramente distinguido do primeiro pela significativa necrose e fibrose características desta lesão (FREESE et al., 1991). Pacientes com lesões basicamente biliares parecem ter um curso clínico mais benigno, caracterizado por colestase persistente, mas manutenção da função hepática (HUBSCHER et al., 1993b).

O período de apresentação e a história natural da rejeição crônica são muito variáveis (ADAMS & NEUBERGER, 1990). Alguns termos como rejeição crônica acelerada apresentando-se menos de 2 meses após o transplante, rejeição crônica precoce manifestando-se 2 a 6 meses após o TH e rejeição crônica tardia, quando ocorre mais de 6 meses após o transplante, têm sido utilizados. O pico de incidência de rejeição crônica é entre 2 e 6 meses após o transplante (HUBSCHER et al., 1991a). A rejeição crônica é raramente observada 12 meses após o transplante, havendo relatos ocasionais de rejeição crônica tardia em alguns centros (WIGHT &

PORTMAN, 1987; KLINTMALM et al., 1989; POLSON et al., 1989; FREESE et al., 1991).

1.2. Histocompatibilidade e Rejeição Crônica

A patogênese do dano observado na rejeição crônica de órgãos sólidos é ainda desconhecida. Mesmo que alguns autores especulem que o mecanismo imune é importante para o desenvolvimento da lesão, a natureza exata deste processo e seu papel como iniciador desta, ainda não é claro (PEARCE et al., 1975; FEEHALLY et al., 1986; CERILLI et al., 1987; OGUMA et al., 1989). Isto é particularmente verdadeiro no TH, onde mesmo que nenhum cruzamento imunológico seja efetuado antes do transplante, a incidência de rejeição crônica é relativamente baixa. Vários estudos têm demonstrado que a expressão dos antígenos de histocompatibilidade está aumentada em algumas estruturas no fígado após o TH, tornando estas estruturas mais suscetíveis a lesões mediadas pelo mecanismo imune (NAGAFUCHI et al., 1985; HUBSCHER et al., 1990). Em particular, existe expressão aumentada de antígenos de classe I nos hepatócitos, de classe II nos ductos biliares, e um aumento da expressão de ambos é observada no endotélio vascular (DEMETRIS et al., 1985; GOUW et al., 1987; SO et al., 1987). Estas alterações, provavelmente, ocorrem em resposta a um aumento na produção de citocinas pela ativação dos linfócitos T. Esta expressão aumentada de antígenos de histocompatibilidade não é, entretanto, específica de rejeição, podendo ser observada também em outras síndromes pós-transplante incluindo isquemia, obstrução biliar e infecção viral (HUBSCHER et al., 1990). Por outro lado, o grau de expressão analisado pela intensidade do caráter imunohistoquímico, é significativamente maior na rejeição do que nas outras complicações citadas. Além disso, nos casos de rejeição aguda que

respondem a drogas imunossupressoras, a expressão destes antígenos retorna a níveis basais, enquanto em casos que evoluem para rejeição crônica nota-se uma persistência de níveis elevados. Não é claro se este fenômeno é fundamental no processo de rejeição crônica ou se é apenas um marcador da resposta imunitária (WIESNER et al., 1991).

O valor da utilização do cruzamento dos antígenos leucocitários humanos (HLA) ainda não é claro (NEUBERGER e ADAMS, 1990; OGURA et al., 1994). A incidência menor de rejeição crônica em doadores vivos relacionados do que em doadores cadáver sugere que a determinação genética de antígenos teciduais é importante no desenvolvimento de rejeição crônica neste órgão (COOK, 1987). Com o objetivo de esclarecer este assunto, MARKUS et al. (1988) estudaram mais de 500 enxertos hepáticos e sugeriram que a compatibilidade HLA influencia de duas maneiras a evolução do TH. Indivíduos com HLA idêntico tiveram uma sobrevida menor do que aqueles com uma ou mais diferenças. Já entre pacientes retransplantados, aqueles cuja indicação era rejeição, apresentavam HLA mais incompatível do que aqueles retransplantados por disfunção primária do enxerto, que apresentavam um grau maior de compatibilidade, em especial na posição DR. Estes achados discordantes fizeram acreditar que a compatibilidade HLA reduz a possibilidade de rejeição, mas aumenta a perda de enxertos por outros mecanismos que são provavelmente mediados imunologicamente.

No estudo de O'GRADY et al. (1988), a combinação de um completo desacordo de antígenos de classe I, com acordo parcial ou completo de antígenos de classe II, foi associado com o desenvolvimento mais freqüente de rejeição crônica. Entretanto, um estudo similar de BATTIS et al. (1988), não confirmou estes mesmos achados. Neste estudo, quando as posições DR e DQ (classe II) são analisados

separadamente, um desacordo na posição DQ parece ser mais importante para o desenvolvimento de rejeição crônica que um desacordo a nível DR.

Um dos motivos que justificam resultados distintos é que o número de coincidências completas é extremamente pequeno em todas as séries. É de se ressaltar, ainda, que a maioria das tipagens HLA, em transplantes, é realizada por técnicas sorológicas atualmente. Em um estudo multicêntrico com 7000 pacientes, quando comparado com a tipagem DNA, este método mostrou-se incorreto em até 25% dos casos, e uma evolução favorável nos transplantes renais tem sido correlacionada com uma coincidência de DNA e não de cruzamentos sorológicos (OPELZ et al., 1992).

MANEZ et al. (1993) sugerem que uma coincidência HLA-DR entre doador e receptor aumenta a incidência de hepatite por citomegalovírus (CMV), tanto nas infecções primárias como secundárias pelo CMV. Além disso, estes autores acreditam que a compatibilidade HLA produz menos rejeição aguda celular, mas observam que a coincidência DR pode acelerar a rejeição crônica nos transplantes hepáticos. Talvez isto se deva a mecanismos imunológicos restritos ao HLA-DR relacionados a antígenos virais, incluindo o CMV. Já DONALDSON et al. (1993) não observaram qualquer relação entre o não cruzamento DR e a sobrevida do enxerto. O cruzamento dos antígenos de classe I, por outro lado, parece influenciar, segundo estes autores, a evolução do enxerto, levando a ocorrência de rejeição aguda e o desenvolvimento mais freqüente de rejeição ductopênica.

Mais recentemente, KNECHTLE et al. (1993) observaram que a discordância de antígenos de classe I (HLA A e B) era preditivo de perda imunológica do enxerto, ao passo que o desacordo DR não estava correlacionado com a perda do fígado

implantado. Este efeito benéfico dos antígenos de compatibilidade HLA, classe I, na evolução do transplante hepático, não é comparável aos transplantes de pâncreas e rim, em que a coincidência de antígenos classe II é mais benéfica. Estes dados podem refletir uma diferença nos mecanismos imunológicos responsáveis pela rejeição no transplante de fígado, em contraste com aqueles envolvidos no transplante renal.

1.3. Citomegalovírus e Rejeição Crônica

O CMV é um agente viral que frequentemente infecta animais e humanos. Em populações imunocompetentes, a grande maioria das infecções por CMV são assintomáticas e ocasionalmente alguns indivíduos manifestam uma síndrome semelhante a mononucleose. Nos pacientes transplantados e imunodeprimidos, esta síndrome é raramente verificada, mas outras manifestações mais severas podem aparecer. A infecção por CMV é a complicação infecciosa mais comum no curso pós-operatório de um paciente com enxerto hepático. Nestes pacientes, as infecções por CMV podem ser sintomáticas e ocasionalmente fatais (PAYA et al., 1989; WIESNER et. al., 1993).

A infecção e doença por CMV podem ocorrer de diferentes maneiras após transplante hepático (WIESNER et al., 1991). Uma infecção primária se desenvolve quando o receptor, que apresenta sorologia negativa para o CMV antes do transplante, mostra evidência de infecção no período pós-operatório. Isto ocorre mais frequentemente quando o doador é soropositivo para CMV e o vírus é transmitido com o enxerto. Menos comum, nos dias atuais, é a infecção primária após transfusão sanguínea, que pode ser evitada pelo uso de derivados sanguíneos de

doadores CMV soronegativos ou, ainda, pela filtração destes produtos (SINGH et al., 1988; BARKAOLT et al., 1990). Já a reativação de uma infecção por CMV ocorre quando o vírus latente começa a replicar após o início da imunossupressão. Este fato sucede com receptores soropositivos que recebem um órgão de um doador soronegativo. Nestes pacientes a replicação viral tardia implica em reativação. De maneira diferente, a infecção em um receptor soropositivo que é transplantado com um enxerto de um doador soropositivo pode representar tanto uma reativação como uma superinfecção. Clinicamente não é possível distinguir superinfecção de reativação, a menos que se utilize estudos sofisticados de seqüências de DNA (CHOU, 1986).

A incidência relatada de infecção por CMV após TH sem terapia profilática varia de 23% à 85%, e aproximadamente metade dos pacientes apresentam sintomas relacionados a infecção ou ao envolvimento do órgão transplantado (SALIBA et al., 1987; FOX et al., 1988; BARKAOLT et al., 1990). Esta grande variação na incidência parece estar relacionada não apenas aos métodos de imunossupressão, mas talvez mais importante, a maneira como é pesquisada a infecção por CMV. Os grupos que utilizam avaliação sistemática de sangue, urina e culturas teciduais para CMV terão certamente uma incidência maior de infecção por CMV do que aqueles cujas culturas são realizadas quando a doença é suspeitada clinicamente.

A infecção por CMV ocorre, em geral, nas primeiras três semanas após TH, com um pico no diagnóstico entre a terceira e quarta semana. Vários fatores têm sido identificados por contribuir com a frequência e severidade da infecção por CMV e incluem o estado de imunossupressão, um doador CMV soropositivo, terapia antilinfocítica, retransplante e hepatite fulminante como indicação de transplante hepático (PAYA et al., 1992). Certamente o fator mais importante que contribui para

a morbidade das infecções por CMV é a terapia imunossupressora (HO, 1991). O estado sorológico do receptor e doador também parece ser um fator importante na determinação da incidência e severidade da infecção por CMV. Algumas análises multivariadas de fatores de risco para infecção por CMV após TH, identificaram que o fato do doador ser CMV soropositivo é o fator de risco mais importante isoladamente para o desenvolvimento de infecção por CMV (GORENSEK et al., 1990; PAYA et al., 1992; WIESNER et al., 1991). O paciente com maior risco de apresentar esta infecção é o receptor soronegativo de um órgão soropositivo (PAYA et al., 1992; WIESNER et al., 1991).

Além de produzir sintomas, o CMV pode ter outros efeitos indiretos. A infecção por CMV tem um efeito imunossupressor direto e parece ser um fator de risco para superinfecção com agentes oportunistas como bactérias gram-negativas, fungos e *P. carinii* (PAYA et al., 1992). Alguns autores (FUJINAMI et al., 1988; O'GRADY et al., 1988) acreditam que a infecção por CMV aumenta a resposta da rejeição pelo aumento da expressão dos antígenos de histocompatibilidade classe I e II. Entretanto, sob o ponto de vista clínico, é difícil demonstrar uma relação causa-efeito entre infecção por CMV e rejeição aguda, que geralmente precede a infecção, sendo esta provavelmente resultado de administração adicional da terapia imunossupressora. Ao contrário, a rejeição após infecção por CMV é quase sempre relacionada à diminuição da imunossupressão, que é parte do regime terapêutico da infecção por CMV (FARGES et al., 1993a; SINGH et al., 1994). Ao observar o uso de OKT3 como opção terapêutica na rejeição aguda, SINGH et al. (1988) não observaram aumento da prevalência de infecção por CMV, mas sim uma maior gravidade destas infecções. Este mesmo grupo quando analisou a utilização profilática de OKT3, não refere aumento da frequência nem da gravidade das infecções por CMV.

Por outro lado, uma associação entre infecção produzida por CMV e rejeição crônica tem sido observada por alguns autores (O'GRADY et al., 1988). O mecanismo pelo qual a infecção por citomegalovirus predispõe a rejeição crônica é pouco entendido. Os argumentos que são a favor desta hipótese são principalmente de quatro ordens. Primeiro, a infecção por CMV é um dos fatores de risco possível da rejeição cardíaca ou renal, e por analogia com estes órgãos é lógico pensar que a infecção por CMV tenha igualmente um papel após TH. O segundo argumento é fisiopatológico. Os canais biliares podem apresentar remanescentes inflamatórios em pacientes não transplantados que tiveram uma infecção por CMV. Além disso, uma infecção por CMV pode ser a única anomalia observada em alguns pacientes que apresentam colangite esclerosante secundária, caracterizada pela presença de uma fibrose inflamatória ao redor dos canais biliares. O terceiro argumento provém principalmente dos estudos realizados nos transplantados hepáticos pela equipe do Kings College, em Londres, e que podem ser resumidos em três pontos: a frequência de rejeição crônica é mais elevada, sete vezes maior nos pacientes que tiveram uma infecção por CMV do que naqueles que não a apresentaram; este risco é ainda maior quando o doador e receptor apresentam um ou dois antígenos de histocompatibilidade compatíveis; e alguns episódios de rejeição aguda podem regredir sob tratamento antiviral (O'GRADY et al., 1988). Soma-se a isto, o fato de que o DNA do CMV persiste dentro dos hepatócitos por mais tempo nos pacientes que apresentam uma infecção por CMV e desenvolvem secundariamente uma rejeição crônica, em relação aos que não apresentam rejeição crônica (ARNOLD et al., 1992).

Uma infecção por CMV, mesmo quando ela não esta localizada no fígado, é associada a sinais de ativação imunitária ao nível do enxerto hepático, em particular um aumento do número de leucócitos hepáticos, notadamente dos linfócitos que

exprimem os antígenos de histocompatibilidade de classe II, e a expressão da molécula de adesão ICAM-1 pelos hepatócitos (FARGES et al., 1993b), além de um aumento da expressão dos antígenos de classe I e II pelos hepatócitos e células biliares (ARNOLD et al., 1992).

MELNICK et al. (1990) sugeriram que a infecção por CMV está associada com heterogênesse, que é possivelmente relacionada ao fato do CMV poder infectar células endoteliais. Estes achados têm sido particularmente descritos em receptores de transplante cardíaco, mas não têm sido observados em receptores de transplante hepático (GRATTAN et al., 1989).

Ainda que estes argumentos sejam fortes, a responsabilidade de uma infecção por CMV no desenvolvimento de rejeição crônica permanece controversa pelas seguintes razões: os dados epidemiológicos não são todos concordantes, PAYA et al. (1992) observaram uma frequência comparável de rejeição crônica nos pacientes que apresentavam ou não infecção pelo CMV. A utilização profilática do "acyclovir" não diminuiu a prevalência de rejeição aguda ou de rejeição crônica (SALIBA et al., 1987; FARGES et al., 1993b; SALIBA et al., 1995). Além disso, até os dias atuais, não foi possível evidenciar, dentro dos canais biliares de indivíduos que apresentam rejeição crônica a presença de antígenos ou de seqüências de DNA específicos de CMV (PAYA et al., 1992).

1.4. Mecanismos Não-Imunológicos e Rejeição Crônica

A associação entre a doença original para a qual o transplante foi realizado e o desenvolvimento posterior de rejeição crônica permanece obscuro. Estudos iniciais não demonstraram qualquer associação (FENNEL et al., 1983), mas dois trabalhos posteriores relataram uma alta incidência de rejeição crônica em pacientes transplantados por colangite esclerosante primária (KLINTMALM et al., 1989; VAN HOEK et al., 1991). DEMETRIS et al. (1988) observaram que a rejeição crônica era mais freqüente em pacientes transplantados por cirrose biliar primária. Mas a diferença na incidência de rejeição crônica entre doenças biliares e não biliares é tão pequena que a necessidade de análise de séries maiores se impõe. STRASSER et al. (1993) referem uma prevalência similar de rejeição crônica em pacientes submetidos a TH por cirrose biliar primária e colangite esclerosante primária, ao redor de 15%, mais elevada do que nos outros grupos de doentes. Vale ressaltar, nestas situações, a dificuldade em diferenciar a recorrência da doença biliar da rejeição ductopênica (HUBSCHER et al., 1993a).

ADAMS et al. (1991) observaram que pacientes transplantados por hepatite crônica B tem uma incidência bem menor de rejeição aguda. A explicação para este achado permanece desconhecida, podendo ser o mesmo déficit imunológico que ocasionou o desenvolvimento da hepatite ou ainda uma consequência da própria infecção viral. Neste mesmo grupo de pacientes, não foi observado nenhum caso de rejeição crônica em indivíduos submetidos a TH por hepatite B, mas este achado é de valor limitado pelo pequeno número de pacientes deste estudo.

Em relato preliminar, FARGES et al. (1994a) observaram que indivíduos transplantados por cirrose pós-hepatite apresentaram índices menores de rejeição

aguda, resistência ao tratamento com corticosteróides, recorrência da rejeição aguda e rejeição crônica quando comparados ao grupo total. Esta associação foi ainda mais clara em pacientes submetidos a TH por cirrose pós-hepatite B e B-delta. A incidência de rejeição crônica foi de 1% para estes últimos, e de 9,5% e 25% para aqueles transplantados por cirrose biliar primária e colangite esclerosante primária, respectivamente. Estes resultados podem sugerir que a resposta imune está reduzida em pacientes transplantados por cirrose pelo vírus B e B-delta.

Um outro fator que pode estar envolvido na rejeição crônica é a isquemia. A rarefação de canais biliares pode ser, em parte, uma resposta isquêmica à arteriopatia obliterativa que caracteriza a rejeição crônica (SNOVER, 1990; REYNES, 1992). Em apoio a isto, OGUMA et al. (1989) demonstraram, através de estudos morfométricos, que o grau de perda dos canais biliares é paralelo à severidade da lesão vascular nos enxertos em estágio terminal com rejeição crônica. Um outro dado a favor desta hipótese são os estudos comparando a microvasculatura dos espaços porta em pacientes com rejeição aguda, rejeição crônica, sem rejeição e fígados normais. Estes revelaram que a perda de estruturas microvasculares precede a perda de canais biliares, tanto na rejeição aguda como na crônica, mas o grau desta perda de microvasculatura é mais importante na rejeição crônica (McCAUGAN et al., 1990).

1.5. Rejeição Aguda

A rejeição aguda é uma complicação freqüente e severa pós-transplante hepático. Esta situação requer tratamento entre 30% e 80% dos casos após TH, geralmente dentro das primeiras duas semanas (SALIBA et al., 1987; PICHLMAYR

e GUBERNATIS, 1987; ASCHER et al., 1988; MOR et al., 1992). A apresentação mais comum é a ocorrência de febre, mal estar e icterícia, com a bile passando a ser menos espessa, pálida, além da redução de seu fluxo (ESQUIVEL et al., 1985; ASCHER et al., 1988; GUBERNATIS et al., 1988). As provas de função hepática freqüentemente apresentam um aumento das bilirrubinas que podem ser seguidas por uma elevação mais moderada na fosfatase alcalina e transaminases. O tempo de protrombina geralmente permanece normal (MADDREY e VAN THIEL, 1988; ADAMS e NEUBERGER, 1990). Estas características não são específicas de rejeição e outras causas de disfunção do enxerto necessitam ser excluídas antes que o episódio de rejeição seja tratado. O diagnóstico diferencial deve ser feito principalmente com isquemia devido a trombose vascular, lesões de preservação, obstrução biliar e infecção (ESQUIVEL et al., 1985). Como a apresentação clínica e os parâmetros bioquímicos de rejeição aguda não são uniformes nem específicos, a análise histológica da biópsia hepática permanece como o padrão ouro para o diagnóstico de rejeição (PORTER, 1988). Ainda que alguns centros utilizem a agulha de biópsia de aspiração fina rotineiramente (LAUTENSCHLAGER et al., 1990), a grande maioria ainda emprega a agulha convencional de biópsia. Em estudo recente, BUBAK et al. (1992) confirmaram que a biópsia hepática é um procedimento seguro após transplante hepático, uma vez que as complicações, que necessitaram tratamento, desenvolveram-se em apenas 17 casos de um total de 950 biópsias hepáticas. Estas complicações foram sangramento em 11 e infecções em 6 pacientes, mas sem mortalidade. O fato de que a biópsia hepática é um procedimento seguro, encorajou seu uso rotineiro no diagnóstico da rejeição aguda assim como protocolos de biópsia hepática após TH, levaram ao desenvolvimento de um consenso sobre as características histológicas do tema tratado (LUDWIG, 1989; DEMETRIS et al., 1991). Assim, a rejeição aguda é caracterizada por três achados histológicos principais. O infiltrado celular inflamatório portal, consistindo não

somente de linfócitos e monócitos, mas também de neutrófilos e eosinófilos; infiltração e dano do epitélio biliar dos ductos biliares intra-hepáticos; inflamação do endotélio venoso dentro dos espaços porta, chamado endotelite venosa (SNOVER et al., 1984; WILLIAMS et al., 1985; WHITE et al., 1987; HUBSCHER, 1991). Em casos severos, as três características estão presentes na biópsia, mas em casos moderados as alterações podem ser variadas. A endotelite é a menos comum, mas a mais específica característica histológica. A lesão de canal biliar é funcionalmente mais importante mas menos específica, estando presente também em hepatite viral e por drogas, assim como em obstrução extra-hepática e nos danos de preservação precoce (SNOVER et al., 1984; WILLIAMS et al., 1985; SNOVER et al., 1990; HUBSCHER, 1991; QUIROGA et al., 1992). A presença de arterite ou arteriolite em alguns pacientes, pode estar associada com a rarefação de canais biliares e evidência de isquemia (WHITE et al., 1987), e estes achados podem ser indicativos de progressão para rejeição crônica (SNOVER et al., 1987; LUDWIG et al., 1987). Após o tratamento com sucesso, as características histológicas de rejeição geralmente resolvem rapidamente, ainda que persistam períodos de colestase até que o enxerto retorne ao normal.

Recentemente tem sido demonstrado que a citologia aspirativa pode também ser utilizada no diagnóstico de rejeição aguda (LAUTENSCHLAGER et al., 1988; GREENE et al., 1988; SCHLITT et al., 1991), e isto representa um método alternativo para a avaliação morfológica dos enxertos. Esta técnica foi originalmente descrita por HAYRY & VON WILLIBRAND (1981a; 1981b), e é usada rotineiramente pelo grupo de LAUTENSCHLAGER et al. (1990). Vários estudos têm demonstrado uma forte correlação entre os achados citológicos e histológicos nos transplantes hepáticos tanto em animais como em homens, e a rejeição pode ser diferenciada de outras causas de disfunção pós-transplante, incluindo a infecção por

CMV (LAUTENSCHLAGER et al., 1984; KIRBY et al., 1988; SCHLITT et al., 1991; KUBOTA et al., 1991; CLOUSTON et al., 1993). KIRBY et al. (1988) demonstraram uma associação entre citologia aspirativa e histologia nas primeiras oito semanas, com a rejeição sendo diagnosticada com uma sensibilidade de 81,3% e uma especificidade de 90%. Estes valores diminuíram após oito semanas para 53,3% e 71,4%, respectivamente. Esta técnica parece ser segura e fácil de realizar, mas requer perícia e experiência na interpretação. Em uma série de 691 biópsias de aspiração realizadas em 35 transplantes, amostras representativas foram obtidas em 598 (86,5%) e nenhuma complicação foi observada. O erro de técnica que aconteceu em 13% dos casos foi devido à amostra insuficiente ou contaminação com sangue, linfa ou ascite. CARBONNEL et al. (1990) obtiveram um número maior de amostras não representativas (28%) devido a um número pequeno de células parenquimatosas. Observações preliminares de biópsias de rotina realizadas em pacientes transplantados sugeriram uma certa discrepância entre os achados morfológicos e clínicos destes pacientes (NASHAN et al., 1989; SCHLIT et al., 1992). Enquanto que episódios de rejeição associados com alterações histológicas moderadas quase sempre acabam necessitando um aumento na imunossupressão, o significado clínico e achados histológicos de menor importância é difícil de definir. Em contraste com outros órgãos, os sinais histológicos de rejeição dentro de um enxerto hepático não são necessariamente associados com sua destruição (WOOD & FARGES, 1993). Em algumas combinações incompatíveis de ratos, por exemplo, o enxerto é infiltrado com leucócitos específicos do doador, entretanto, as provas de função hepática permanecem normais. Esse infiltrado resolve espontaneamente e o receptor torna-se tolerante ao enxerto hepático e apresenta uma sobrevida maior a longo prazo (FARGES et al., 1994b). Também tem sido repetidamente demonstrado, que o protocolo de biópsias realizadas no período pós-operatório precoce, pode revelar alterações histológicas características de rejeição em pacientes sem disfunção clínica

ou bioquímica (SALIBA et al., 1987; SCHLITT et al., 1992). Estas alterações são geralmente resolvidas sem a necessidade de tratamento anti-rejeição. Casos de resolução espontânea de rejeição aguda associada com alterações bioquímicas são menos comuns, mas já foram relatadas (ADAMS e NEUBERGER, 1990). AYRES e ADAMS (1993) observaram oito pacientes com características histológicas moderadas de rejeição e anormalidades bioquímicas, nos quais a rejeição resolveu completamente sem a necessidade de tratamento imunossupressor adicional. A repercussão clínica destes achados não é clara no momento, mas com o aumento da experiência, a tendência em vários grupos tem sido de reservar o tratamento, com aumento da imunossupressão, para aqueles pacientes com disfunção bioquímica e achados característicos na histologia hepática (MOR et al., 1992). Esta conduta levou a uma diminuição na incidência dos episódios de rejeição tratada de 70% previamente para aproximadamente 30% na maioria dos serviços na atualidade (MOR et al., 1992; AYRES e ADAMS, 1993; CHERQUI et al., 1994). Esta conduta parece não ter aumentado a progressão para a rejeição crônica, ao contrário, a incidência está diminuindo em algumas unidades (PIRSCH et al., 1990). Em estudo recente, FARGES et al. (1993c) confirmaram que os sinais histológicos de rejeição não associados com o aumento das provas de função hepática não requerem tratamento específico e são associados com um prognóstico particularmente favorável. Além disso, pacientes com sinais meramente histológicos de rejeição, obtidos em biópsias hepáticas de rotina, apresentam um índice menor de episódios subsequentes de rejeição clínica aguda, uma menor incidência de rejeição crônica e uma melhor sobrevida do paciente e do enxerto, em relação a pacientes que apresentaram um episódio precoce de rejeição clínica. Estes resultados sugerem, assim como em modelos experimentais, que a evolução imunológica a longo prazo dos transplantes hepáticos em humanos é, ao menos em parte, relacionado ao padrão da resposta imune que ocorre durante o período pós-operatório precoce. O

verdadeiro significado dessas alterações histológicas não associadas com alterações bioquímicas permanece obscuro. No modelo de transplante hepático em rato, o número e fenótipo de células específicas do doador infiltrando enxertos rejeitados e não rejeitados são comparáveis (FARGES et al., 1994b). Entretanto, a análise da expressão da citoquina RNA dentro do enxerto sugere que rejeições histológicas assintomáticas e rejeições clínicas são mediadas por vias distintas da ativação de células T. É provável que isto também seja verdade no transplante hepático em humanos, e que esses episódios de rejeição histológica sejam o resultado de uma resposta imune diferente daquela secundária aos episódios de rejeição clínica. Enquanto a grande maioria dos pacientes responde satisfatoriamente ao tratamento com altas doses de corticosteróides a vários episódios de rejeição, outros são resistentes e talvez este seja o estágio inicial de uma progressão para uma rejeição irreversível (ASCHER et al., 1988; MOR et al., 1992). O ideal seria se tivéssemos capacidade de prever a evolução da rejeição em um momento em que os pacientes ainda fossem suscetíveis a uma mudança de tratamento. Quando falha o tratamento com corticosteróides, a primeira opção é a utilização de anticorpos monoclonais (OKT3) por via endovenosa (COSIMI et al., 1987). A utilização de novas terapias como FK506 (HYTIROGLOU et al., 1993; McDIARMID et al., 1993; WINKLER et al., 1993; BACKMAN et al., 1994; EGAWA et al., 1994) ou anticorpos de adesão à molécula ICAM-1 ou a receptores da interleucina2 são prometedoras, mas necessitam confirmação em séries maiores antes que possam ser recomendadas para uso rotineiro (FUNG et al., 1991; AYRES e ADAMS, 1993).

1.6. Utilização de Enxertos Incompatíveis

O uso de enxerto em incompatibilidade sanguínea ABO é geralmente contraindicado. Enquanto alguns autores não acreditam que esta incompatibilidade altere de maneira importante a evolução do transplante hepático (ALEXANDRE et al., 1987), outros referem diminuição da sobrevida e aumento do número de complicações nestas situações (GORDON et al., 1986).

Os antígenos relacionados a grupo sanguíneo são expressos não somente na superfície dos eritrócitos, mas também em uma variedade de células epiteliais no corpo humano (ERNEST et al., 1984). Estudos recentes demonstraram que a expressão destes antígenos no sistema biliar intra-hepático de um fígado normal, ocorre principalmente nas células epiteliais dos grandes ductos biliares, e é virtualmente ausente no epitélio de pequenos ductos biliares e dos hepatócitos (OKADA et al., 1988; NAKAMUMA & SASAKI, 1989). SÁNCHEZ-URDAZPAL et al. (1993) acreditam que o epitélio biliar dos enxertos hepáticos após TH incompatível continua a expressar os antígenos do doador, tornando-se mais suscetível a danos imunológicos e conseqüente lesão de ductos biliares. A presença no receptor de anticorpos anti AB pré-formados e a ampla expressão destes antígenos nas células endoteliais, somado a uma variedade de células epiteliais parenquimatosas (ERNEST et al., 1984; CORDON-CARDO et al. 1986), realmente resulta em um risco de rejeição hiperaguda do enxerto (BLOOM et al., 1994; COLLETTI et al., 1994).

A recente Conferência de Consenso sobre as Indicações de Transplante Hepático (1994) deixou claro, entretanto, que o uso de enxertos ABO incompatíveis

para tratar insuficiência hepática fulminante ou subfulminante é justificada, baseada nas seguintes considerações:

- 1) a evolução espontânea desta doença é geralmente letal quando os indicadores de insuficiência hepática atingem os níveis limiares já bem validados pela literatura (BERNUAU et al., 1986; O'GRADY et al., 1989);
- 2) uma vez que o transplante hepático está indicado ele dever ser realizado em emergência, devido a rapidez com que o estado clínico pode deteriorar e pelo risco de morte cerebral após o transplante por edema cerebral, mesmo quando o enxerto está funcionando bem (BISMUTH et al., 1987);
- 3) ainda não existe, nos dias atuais, nenhuma terapêutica efetiva que pode permitir esperar por um enxerto mais compatível (BERK & GOLDBERG 1988; RIBEIRO et al., 1992);
- 4) existem observações clínicas experimentais e circunstanciais de uma maior resistência do fígado à resposta imune humoral (WOOD & FARGES, 1993).

Em um relato preliminar de 17 pacientes, a incompatibilidade ABO não teve impacto significativo na sobrevida dos pacientes em um período de acompanhamento de 2 anos, por outro lado a sobrevida do enxerto estava reduzida de maneira importante (GUGENHEIM et al., 1990). Em uma série mais recente, a sobrevida atuarial do enxerto a um ano foi de 44% contra 78% em pacientes submetidos a TH compatível (SÁNCHEZ-URDAZPAL et al., 1993). Estes dois estudos concordam que a ocorrência de estenoses biliares extensas, graves e tardias ocorre mais freqüentemente com o uso de enxertos incompatíveis. Também uma incidência elevada de rejeição aguda celular foi observada. SÁNCHEZ-URDAZPAL et al. (1993) não observaram nenhum caso de rejeição crônica em sua série de 18 transplantes com enxerto incompatível.

A evolução a longo prazo de transplantes hepáticos com enxertos incompatíveis é pouco conhecida. Isto deve-se ao fato de que o número de estudos é pequeno, com poucos pacientes, em geral com grupos heterogêneos em relação a idade, indicação do transplante ou urgência médica (DEMETRIS et al., 1988; IWAKI et al., 1988; FISCHER et al., 1989; RENARD & ANDREWS, 1992; SÁNCHEZ-URDAZPAL et al., 1993; TOKUNAGA et al., 1993; YANDZA et al., 1994). Assim, várias questões permanecem sem resposta: A utilização de enxerto ABO incompatível pode exercer um impacto na sobrevida do paciente a longo prazo? Devem os pacientes com enxerto ABO incompatível serem sistematicamente retransplantados? Qual é o regime imunossupressor ideal neste contexto?

1.7. Justificativa

A importância de conhecermos melhor o processo de rejeição crônica após transplante hepático, estimulou-nos a empreender um estudo no sentido de identificar fatores prognósticos para o seu desenvolvimento, através da análise de uma grande série de pacientes. Além disso, o fato de um grupo de doentes terem sido submetidos a transplante em grupo sanguíneo incompatível, levou-nos a estudar os resultados desta alternativa terapêutica na insuficiência hepática aguda.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Identificar fatores associados ao desenvolvimento de rejeição crônica após TH e analisar os resultados do TH com enxertos incompatíveis.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Identificar fatores prognósticos em pacientes que desenvolveram ou não rejeição crônica.

2.2.2. Comparar a rejeição crônica tipo VBDS com a rejeição crônica vascular, quanto a esses fatores.

2.2.3. Em relação aos transplantes incompatíveis, observar se estes "per se" têm impacto na sobrevida dos pacientes a longo prazo, qual o regime imunossupressor ideal neste grupo de pacientes, e as complicações pós-transplante.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Amostra

Esta amostra compreende uma população de pacientes submetidos a transplante hepático no Centro Hepatobiliar e de Transplante Hepático do Hospital Paul-Brousse (Chefe: Prof. Henri Bismuth) em Villejuif, França. Todos os pacientes transplantados, no período de 1984 à 1992, foram estudados.

As seguintes variáveis foram analisadas através de um protocolo elaborado especificamente para este estudo, visando observar sua associação com rejeição crônica:

- a indicação do TH;
- o primeiro episódio de rejeição aguda (natureza da rejeição, intervalo entre rejeição e o TH, os achados histológicos, a sensibilidade ao tratamento, a evolução da rejeição, sua severidade);
- a compatibilidade ABO;
- a imunoprofilaxia básica;
- a combinação CMV doador e receptor;
- a presença de infecção por CMV;
- o cruzamento HLA nas classes A, B e DR.

Os dados, que foram armazenados de maneira prospectiva, foram transportados para programa File Maker Pro 2.0 (Macintosh). Todos os fatores prognósticos em estudo foram contemplados neste protocolo.

Além disso, todas as lâminas do primeiro episódio de rejeição aguda foram revisadas, sendo atribuído nível de gravidade para as lesões histológicas descritas anteriormente. Também a última biópsia ou a peça de retransplante foram reavaliadas, no sentido de confirmação do diagnóstico anátomo-patológico de rejeição crônica. Esta foi efetuada por dois patologistas (Prof. Michel Reynes e Milene Sebah). No período de um ano, todos os pacientes transplantados vivos foram reavaliados no ambulatório e/ou hospital dia do Centro Hepatobiliar através de parâmetros bioquímicos e biópsia hepática por via transjugular ou percutânea para avaliação histológica do enxerto. Vale ressaltar que isto faz parte do acompanhamento de rotina do transplantado, não sendo um risco adicional provocado pelo estudo em tela. A coleta de dados foi realizada no período de setembro de 1992 a outubro de 1993. O delineamento deste estudo compreende um estudo de coorte, onde os fatores prognósticos são o fator em estudo e a presença de rejeição crônica é o desfecho clínico. A análise dos resultados dos transplantes incompatíveis, por outro lado, trata-se de um estudo de casos. Em relação a aspectos éticos, esta pesquisa pode ser considerada como de risco mínimo aos participantes.

3.2. Características da População Estudada

No período de dezembro de 1984 a setembro de 1992, 840 transplantes hepáticos foram realizados em 742 pacientes do Centro Hepatobiliar e de Transplante Hepático do Hospital Paul-Brousse. Houve um aumento do número de TH do programa durante os últimos anos, sendo que 289 transplantes foram realizados em 264 pacientes de 1984 à 1988 e 551 em 478 pacientes no período de 1989 à 1992. Para este estudo, os seguintes critérios de exclusão foram aplicados: transplantes realizados com técnica heterotópica, período de preservação do enxerto

maior do que 12 horas, transplantes realizados com fígados bipartidos. Os transplantes realizados com enxertos ABO incompatíveis também foram excluídos da análise dos fatores prognósticos de rejeição crônica, mas pelo grande interesse de sua utilização serão analisados separadamente. Assim, 707 transplantes preenchem os critérios para participar desse estudo. Em adição, indivíduos que sobreviveram menos de 30 dias após o transplante foram excluídos desta análise, exceto para os estudos de sobrevida. Dos 707 transplantes realizados, em 389 eram indivíduos do sexo masculino (55%) e 318 do sexo feminino (45%). A idade dos pacientes variou de 1 a 77 anos, com média de $39,9 \pm 13,9\%$ sendo que 682 eram brancos. As indicações para o transplante hepático estão especificadas na Tabela 1. O transplante hepático ortotópico foi realizado de acordo com as técnicas previamente descritas e a reconstrução biliar foi efetuada através de coledoco-coledocostomia ou coledocojejunostomia com anastomose em Y-de-Roux.

TABELA 1

Indicações de transplante hepático no Centro Hepato-Biliar. Hospital Paul - Brousse (1984 - 1992).

INDICAÇÃO	n (%)
Cirrose pós-hepatite	251 (35,5%)
B	49 (6,9%)
C	94 (13,3%)
B - delta	90 (12,7%)
Criptogênica	18 (2,5%)
Outras Cirroses	127 (18%)
Alcoólica	20 (2,8%)
Auto-imune	22 (3,1%)
CBP	77 (10,9%)
Biliar Secundária	8 (1,1%)
Carcinoma hepatocelular	81 (11,4%)
Colangiocarcinoma	11 (1,5%)
CSP	24 (4,4%)
Hepatite fulminante	111 (15,7%)
ReTH	76 (10,7%)
Atresia de via biliar	13 (1,8%)
Outros	13 (1,8%)
TOTAL	707 (100%)

Em relação à técnica cirúrgica, a única modificação foi o advento da solução de BELZER (1988) que foi introduzida no Serviço em 1989 e, após, utilizada continuamente para todos os pacientes. Sem dúvida, a solução de Winsconsin permitiu o aumento do tempo de isquemia fria e facilitou o procedimento cirúrgico, entretanto, a conduta do Serviço tem sido manter o menor tempo possível de isquemia, idealmente menor de 12 horas. Por outro lado, a diminuição do número de doadores levou a um uso maior de doadores idosos. A idade média dos doadores foi $28,5 \pm 11$ no período de 1984 à 1988, e $31,2 \pm 14$ no período de 1989 à 1992. Além

disso, de 1984 à 1988, 6% dos doadores tinham idade acima de 50 anos comparados com 13,4% dos doadores no período de 1989 à 1992.

3.3. Regime de Imunossupressão

O protocolo de imunossupressão era principalmente baseado na utilização de uma terapia tríplex com uma combinação de ciclosporina, azatioprina (AZT), e corticosteróide. Vários protocolos de prevenção de rejeição aguda severa foram testados: uma terapia imunossupressora tríplex utilizando uma combinação de soro antilinfocitário (SAL) ou OKT3 associada à AZT e corticosteróides, sendo trocados pela ciclosporina entre os dias 10 e 14 foi realizada. O uso de OKT3 foi efetuado em um estudo multicêntrico, que envolveu 50 pacientes do Serviço. Já a utilização de SAL no lugar da ciclosporina em casos de insuficiência renal pós-operatória, ocorreu em 108 doentes. Em um estudo multicêntrico europeu mais recente, foi utilizada uma combinação de FK506 e corticosteróides no lugar da terapia imunossupressora clássica com esquema tríplex, em 37 pacientes desta série. O esquema clássico do Serviço segue o protocolo com três drogas imunossupressoras que combinam a ciclosporina, AZT e esteróides. O corticosteróide era administrado a uma dosagem de 10 mg/kg/dia a partir do dia 0 e reduzido até 0,3 mg/kg até o dia 7. A AZT foi dada a uma dosagem de 2 mg/kg/dia a partir do dia 0, e a ciclosporina era iniciada no pós-operatório através de infusão endovenosa na dosagem de 1 mg/kg/dia, sendo rapidamente aumentada para 6 mg/kg/dia. A dosagem desta droga era ajustada de acordo com os níveis de nitrogênio uréico sanguíneo e de creatinina, assim como os níveis de ciclosporina sérica. Durante as duas primeiras semanas após o transplante, o objetivo é atingir o nível de ciclosporina sérica monoclonal de 400 à 500 mg/ml e níveis de ciclosporina sérica policlonal de 1000 mg/ml. Estes níveis relativamente

elevados de ciclosporina são reduzidos progressivamente para 300 mg/ml e 600 mg/ml pelas dosagens monoclonal e policlonal, respectivamente, até o fim do primeiro mês após o transplante. Os episódios de rejeição aguda foram tratados de maneira similar em todos os pacientes do grupo estudado. Esse tratamento compreendia a infusão endovenosa de 1 mg de metilprednisolona, repetida 48 horas mais tarde, se necessário. Em caso de resposta negativa ao tratamento com corticosteróides, seguia-se por uma terapia de 10 dias com OKT3 na dose de 5 mg /kg/dia por via endovenosa.

3.4. Diagnóstico e Classificação da Rejeição Aguda

Biópsias hepáticas de rotina eram realizadas até dezembro de 1987, nas duas primeiras semanas após o transplante. Após este período, estas só foram realizadas em casos de disfunção hepática no período pós-operatório imediato. Uma biópsia hepática de rotina foi sempre realizada 6 e 12 meses após o transplante e após, anualmente. As amostras eram fixadas em formalina 10%, embebidas em parafina e coradas com hematoxilina e eosina. Estas amostras eram lidas por dois patologistas e graduadas de acordo com os critérios abaixo expostos. Assim, o diagnóstico histológico é feito pela análise de três características: o infiltrado celular portal, as lesões dos canais biliares e as lesões endoteliais dos ramos da veia porta, das veias centrais e, sobretudo, das veias colaterais. Para avaliar a intensidade destes fenômenos de rejeição, utilizamos os critérios definidos por SNOVER et al. (1987) que gradua de 0 a 3 a intensidade destes três fenômenos, e que é abaixo especificada.

Infiltrado portal

Grau 1 - leve infiltrado celular, raros linfócitos ativados, alguns espaços porta são sub normais.

Grau 2 - alguns espaços porta apresentam infiltrado importante ou todos os espaços porta apresentam infiltrado médio. Existem alguns linfócitos ativados.

Grau 3 - todos os espaços porta ocupados por infiltrados importantes. Os linfócitos ativados são numerosos.

Lesões dos Canais Biliares

Grau 1 - apenas alguns canais biliares apresentam alterações.

Grau 2 - numerosos canais biliares alterados, mas persistem alguns subnormais.

Grau 3 - todos os canais biliares estão lesados e as alterações são grosseiras.

Lesões endoteliais

Grau 1 - alguns cortes de veia porta são atingidos de maneira moderada. Numerosos cortes venosos são normais. As veias centrais e colaterais não estão alteradas, nem as artérias.

Grau 2 - quase todas as veias dos espaços porta estão lesadas de maneira franca.

Grau 3 - todas as veias dos espaços porta estão alteradas de maneira importante. As veias centrais e colaterais apresentam igualmente estas lesões. Algumas vezes o endotélio arterial pode estar alterado.

Grau 0 - corresponde à ausência de alterações em todas as características. O escore histológico global da rejeição é a soma de todos estes escores. Para este estudo,

definimos como rejeição leve a soma dessas 3 características igual a 3, moderada quando esta soma era entre 3 e 6 e grave acima de 6. A rejeição clínica é definida pela presença de alterações histológicas associada a alterações das provas de função hepática. A ocorrência de alterações histológicas sem a respectiva manifestação laboratorial e clínica é definida como rejeição assintomática neste estudo. Além disso, estes pacientes foram estratificados de acordo com a ocorrência de rejeição clínica aguda precoce, ou seja, até o 20º dia do pós-operatório (n=134), e rejeição tardia, após o 20º dia de pós-operatório (n=54). Em relação ao tratamento do primeiro episódio de rejeição aguda, este era classificado em córtico-sensível, córtico-resistente, resistente a OKT3 ou melhora espontânea. Quanto à evolução deste primeiro episódio de rejeição, classificou-se como sem recidiva, recidiva precoce, ou seja, menos de três meses após o TH, e recidiva tardia, quando ocorreu após três meses do TH.

A rejeição hiperaguda foi diagnosticada em casos de não funcionamento imediato ou secundário do enxerto, quando nenhuma outra explicação clínica ou patológica foi encontrada. A patência dos vasos do enxerto foi particularmente pesquisada através do doppler ou angiografia. Os achados histológicos eram infiltrados hemorrágicos a nível dos espaços porta e lóbulos, assim como depósitos intensos de fibrinogênio e IgM nos sinusóides e células endoteliais.

3.5. Tipagem HLA

A tipagem dos antígenos leucocitários humanos (HLA) foi realizada utilizando as técnicas clássicas (teste de linfocitotoxicidade modificada - Amos). Para este estudo foi possível analisar os antígenos HLA A e HLA B de classe I, e

apenas o antígeno HLA DR da Classe II. O não cruzamento HLA foi definido como um antígeno que estivesse presente no doador mas não no receptor.

3.6. Citomegalovírus: profilaxia, acompanhamento e definição de infecção

A profilaxia da infecção viral era realizada em todos os pacientes, até 1989, com baixas doses de acyclovir administradas por via endovenosa (5 mg/kg, 3 vezes/dia), durante os primeiros 5 dias após o transplante, e após por via oral (200 mg, 5 vezes ao dia até o 21º dia após o transplante). A partir de 1990 o sistema profilático foi modificado e o acyclovir era dado por via intravenosa na dose de 500 mg/m² de superfície corporal a cada 8 horas durante os primeiros 10 dias de pós-operatório, e após por via oral na dose de 3.200 mg/dia até o fim do terceiro mês após o transplante. As doses eram ajustadas de acordo com a função renal. A determinação de anticorpos para citomegalovírus antes do transplante hepático foi possível em 622 dos 707 doadores, sendo 353 positivos e 269 negativos. Em 85 doadores não foi possível definir esta característica. Dos receptores, em apenas 3 não se definiu a presença ou não de anticorpos para citomegalovírus antes do TH. Do grupo total, 558 eram positivos e 146 eram negativos. Após o TH, testes sorológicos para CMV eram realizados semanalmente até a oitava semana e após no 6º e 12º mês, ou quando havia disfunção hepática. A infecção por citomegalovírus foi definida por isolamento do vírus do sangue, do tecido hepático, do tecido pulmonar ou através da detecção no sangue de anticorpos IgM CMV específicos. Estes achados, na ausência de evidência clínica de infecção, foram definidos como infecção por citomegalovírus assintomática. A infecção sintomática por CMV foi definida pela presença dos achados acima expostos, acompanhado por evidência clínica de infecção por CMV, ou seja, duas ou mais das seguintes manifestações

clínicas: febre inexplicada, artralgias, leucopenia, gastroenterite, pneumopatia e hepatite. A hepatite por CMV foi definida pela detecção do CMV no tecido hepático associado aos achados laboratoriais já citados, e a presença de provas bioquímicas anormais de função hepática. A pneumopatia por CMV foi definida por detecção do CMV no tecido pulmonar pelo método histológico ou uma cultura positiva para CMV obtida de lavagem bronco alveolar com evidência radiológica de pneumonia e quadro clínico compatível. Todos os pacientes com doença por CMV foram tratados com ganciclovir na dose de 2.5 mg/kg a cada 8 horas por 14 dias.

3.7. Definição e Classificação da Disfunção Crônica do Enxerto

No período de um ano, todos os pacientes transplantados vivos foram reavaliados no ambulatório ou hospital/dia do Centro Hepatobiliar, através de parâmetros bioquímicos e biópsia hepática por via transjugular ou por controle ecográfico, para avaliação histológica do enxerto. Também a última biópsia ou o enxerto foram avaliados naqueles casos de óbito ou retransplante, no sentido de reconfirmação do diagnóstico anátomo-patológico de rejeição crônica. A rejeição crônica foi definida como uma combinação de anormalidades clínicas, associadas com características histológicas específicas. A rejeição crônica se manifesta essencialmente por uma colestase. Em sua forma clássica, existe a presença de icterícia associada ou não ao prurido. Sob o ponto de vista bioquímico há elevação da fosfatase alcalina, gamaglutamil transpeptidase (GGT) e bilirrubinas, associada a uma elevação das transaminases. A normalização da GGT e a carência dos fatores de coagulação estão frequentemente associadas à insuficiência hepática e a uma rejeição crônica de uma forma grave. Em pacientes que apresentam estas manifestações clínicas, duas formas histológicas distintas são observadas e

consideradas características de rejeição crônica. Uma consiste na perda progressiva dos canais biliares interlobulares com marcada colestase canalicular mas sem evidência de dano hepatocelular consistente ou progressivo. Além disso, existe um pobre infiltrado inflamatório, com endarterite espumosa podendo conduzir até a obliteração completa das arteríolas com fibrose portal e interportal. Este quadro é descrito sob o nome de síndrome de rarefação dos canais biliares ou, na literatura anglo-saxônica, como "vanishing bile duct syndrome" (VBDS). Foi estimado que para a caracterização de rejeição crônica exista desaparecimento completo dos canais biliares em mais de 50% dos espaços porta examinados. Para fins deste estudo, quando o desaparecimento dos canais biliares não era completo, ou seja, inferior a 50% dos espaços porta, foi denominado como diminuição de canais biliares. O desaparecimento do canal biliar foi somente caracterizado quando a análise do espaço porta mostrou a presença de arteríola, confirmando que o plano seccionado permitiria a visualização do ducto, se este estivesse presente. O outro grupo de pacientes, pode apresentar lesão de ducto severa e até mesmo perda de canais biliares, mas é distinguida do primeiro por apresentar dano hepatocelular progressivo com degeneração centrolobular, necrose e ou fibrose, para fins deste estudo denominada rejeição crônica vascular. Finalmente, a rejeição pode se manifestar por lesão de grandes canais biliares, com canais biliares interlobulares normais, lembrando aquele aspecto observado nas colangites esclerosantes primárias. Em resumo, para o diagnóstico de rejeição crônica ser feito, os pacientes necessitavam apresentar as características clínicas expostas e alguma das manifestações acima citadas.

3.8. Acompanhamento pós-operatório após TH

Os seguintes exames laboratoriais eram realizados duas vezes ao dia durante as duas primeiras semanas após o transplante: bilirrubinas, transaminases, gamaglutamil transpeptidase, fosfatase alcalina, tempo de protrombina, creatinina, nitrogênio ureico sérico e eletrólitos. Os exames morfológicos realizados rotineiramente eram: a ultrassonografia no 2º dia de pós-operatório, a colangiografia no 7º dia pós-operatório, e a tomografia computadorizada no 10º dia após o transplante. Como rotina, biópsia hepática era realizada duas horas após a revascularização do enxerto, ou seja, um pouco antes do fechamento da cavidade abdominal. Este mesmo procedimento era repetido no 7º, 15º, 30º e 60º dia após o TH no período de 1984 à 1987. Após este período, na fase pós-operatória, só era realizado em casos de disfunção hepática. No entanto, era realizado rotineiramente nas revisões de controle de 6 e 12 meses, e após anualmente. Em caso de disfunção hepática, ou seja, em pacientes que apresentavam um aumento significativo de bilirrubinas e de enzimas hepáticas, a colangiografia, exames ultrassonográficos e tomográficos e a biópsia hepática eram rapidamente realizados.

3.9. Características da População Estudada em ABO incompatível

No mesmo período (12/84 a 09/92), 43 TH ABO incompatíveis foram realizados em 40 pacientes (16 homens e 24 mulheres, média de idade $32,3 \pm 10,8$ anos), todos os indivíduos eram brancos. Exceto em um paciente, que recebeu enxerto ABO incompatível para um transplante hepático eletivo (erro no tipo sanguíneo do doador), todos os transplantes foram realizados em emergência para insuficiência hepática fulminante ou subfulminante (n=35), doença de Wilson aguda

(n=1), perda do enxerto primário por rejeição aguda (n=4), não funcionamento primário (n=1) ou hepatite tóxica (n=1). Durante o período estudado, os enxertos ABO incompatíveis foram utilizados para transplantar 24,5% das insuficiências hepáticas subfulminantes ou fulminantes (36/147) e 8,3% dos retransplantes em emergência (6 de 72).

3.10. Imunossupressão em Incompatibilidade ABO

A imunoprofilaxia era inicialmente baseada na associação de metilprednisolona, AZT, ciclosporina ou anticorpos poli ou monoclonais em caso de contra-indicação ao uso de ciclosporina. Desde maio de 1989 a imunoprofilaxia também incluiu administração de SAL (imunoprofilaxia quádrupla) ou GAT. Com o objetivo de analisar a influência da imunoprofilaxia na evolução, os pacientes foram retrospectivamente estratificados em 4 grupos:

Grupo 1 - (n=9). Imunoprofilaxia quádrupla, todas as drogas administradas de acordo com o esquema ideal planejado.

Grupo 2 - (n=8). Imunoprofilaxia tripla, todas as drogas sendo administradas de acordo com o esquema planejado.

Grupo 3 - (n=10). Imunoprofilaxia quádrupla planejada, mas a ciclosporina foi introduzida tardiamente (após o segundo dia pós-operatório), devido a insuficiência renal pós-operatória.

Grupo 4 - (n=8). Imunoprofilaxia dupla; SAL ou GAT e ciclosporina introduzidos tardiamente.

Pacientes que morreram no período pós-operatório imediato foram excluídos desta análise particular.

3.11. Incompatibilidade de Grupo Sangüíneo e Monitorização de Antígenos

Trinta e quatro receptores eram do grupo O e receberam um enxerto do grupo A (n=30), B (n=2) ou AB (n=2). Cinco pacientes eram do grupo B e receberam fígado do grupo A, os restantes 4 pacientes eram do grupo A e receberam um enxerto do grupo B (n=3) ou AB (n=1). Os cinco doadores do grupo A em que foi possível identificar o subtítulo eram do grupo A1. A verificação da presença de alo-anticorpos ABO foi realizada utilizando o teste de tipagem reversa clássica. Quando os alo-anticorpos estavam presentes, os títulos eram obtidos com teste de diluição seriada com um soro de hemácias anti A ou B. Os títulos de anticorpos anti AB no pré-operatório foram possíveis de medir em oito pacientes, variando entre 1/64 até 1/1024 (média de 1/256). Os anticorpos AB foram monitorizados pós-operatoriamente em 26 pacientes, diariamente até o dia 10-14, e 3 a 5 vezes por semana posteriormente até que os pacientes deixassem o hospital.

3.12. Análise Estatística

Para análise dos dados relacionados ao desenvolvimento de rejeição crônica, foram utilizadas técnicas de análise de dados categóricos, sendo que para as diversas tabelas de contingência usou-se principalmente o teste qui-quadrado complementado pela análise de resíduos das caselas (EVERITT, 1992). Nas tabelas com variáveis dicotômicas, tabelas 2x2, efetuou-se o teste exato de Fisher e analisamos ainda a razão de chances (Odds Ratio).

Para os pacientes transplantados em incompatibilidade ABO, os índices de sobrevida dos enxertos e dos pacientes foram estimados aplicando a técnica de

Kaplan Meier. O Teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher, assim como Wilcoxon 2 foram usados para as comparações pré-tratamento. O risco relativo foi obtido pelo produto cruzado de acordo com a entrada nas tabelas 2 x 2. As comparações entre as curvas de sobrevida foram realizadas usando o logrank teste.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Incidência de Rejeição Aguda e Crônica

Do grupo total, 550 pacientes preenchiam os critérios para análise, o que significa uma sobrevida global dos enxertos de 77,7%. A incidência de rejeição crônica neste grupo foi de 7,8% (43 pacientes). Destes, a síndrome de rarefação de canais biliares (VBDS), ocorreu em 27 doentes (4,9%). A rejeição crônica vascular foi observada em 16 pacientes (2,9%). Treze pacientes (2,4%) apresentavam diminuição de canais biliares em menos de 50% dos espaços porta examinados.

A rejeição aguda com manifestações clínicas foi evidenciada em 188 pacientes, correspondendo a 34,2%. Já a rejeição assintomática, ou seja, rejeição histológica sem manifestações clínicas, ocorreu em 154 pacientes (28%). Do grupo com rejeição clínica, 137 destes apresentaram rejeição clínica até o 20º dia após o transplante (24,9%) e 51 após o 20º dia (9,2%). A imunoprofilaxia básica foi realizada com ciclosporina em 406 pacientes (73,8%), soro antilinfocitário em 65 (11,8%), anticorpo monoclonal (OKT3) em 38 pacientes (6,9%). Em 30 doentes utilizou-se o FK506 (5,5%) e em 11 (2%) o BB10. Não foi observada nenhuma associação entre a terapêutica básica utilizada e o desenvolvimento de rejeição crônica (Tabela 2). Em relação à classificação da rejeição aguda, 104 pacientes foram sensíveis ao tratamento com corticóides (52,3%), quarenta doentes (20,1%) foram resistentes a este tratamento e treze (6,5%) foram resistentes ao tratamento com OKT3. Quanto à evolução da rejeição aguda observou-se que 107 pacientes (63,7%) não apresentaram recidiva, já a recidiva precoce ocorreu em 29 (17,3%) doentes e em outros 29 (17,3%) a recidiva foi após os 3 meses.

TABELA 2

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a imunoprofilaxia básica utilizada.

IMUNOPROFILAXIA					
	CICLOSPORINA	SAL	OKT3	FK506	BB10
TIPO DE RC	n = 406 (73,8%)	n = 65 (11,8%)	n = 38 (6,9%)	n = 30 (5,5%)	n = 11 (2%)
RC Vascular	n = 11 (68,8%)	n = 2 (12,5%)	n = 1 (6,3%)	n = 2 (12,5%)	n = 0
VBDS	n = 18 (66,7%)	n = 4 (14,8%)	n = 4 (14,8%)	n = 0	n = 1 (3,7%)

4.2. Rejeição Aguda como Fator Prognóstico de Rejeição Crônica:

Dos 27 indivíduos que desenvolveram VBDS, 24 (78,9%) apresentaram episódio de rejeição clínica prévia e 12 dos 16 com rejeição crônica vascular (75%) tiveram episódios prévios de rejeição clínica ($p \leq 0,05$). Dos 154 pacientes com rejeição histológica assintomática, apenas um desenvolveu VBDS (3,7%). Este valor é significativamente menor do que o esperado ($p \leq 0,05$). Deste grupo, apenas 3 pacientes apresentaram rejeição crônica vascular e 5 tiveram diminuição dos canais biliares, ainda que estes resultados não tenham sido significativos. A maioria destes doentes (150) não desenvolveu rejeição crônica ($p \leq 0,05$).

Quando observamos a rejeição quanto à sua precocidade, notamos que além da baixa associação entre rejeição assintomática e VBDS, tanto os episódios de rejeição precoce, até o 20º dia após o TH, como os mais tardios, após os 20 dias, estavam associados significativamente com VBDS ($p \leq 0,05$) (Tabela 3). Estes resultados foram confirmados pela realização do teste exato de Fisher e OR (Tabelas 4,5,6 e 7).

TABELA 3

Distribuição de casos de rejeição crônica de acordo com a natureza do primeiro episódio de rejeição aguda.

NATUREZA DA REJEIÇÃO			
	REJ. CLÍNICA < 20	REJ. CLÍNICA > 20	REJ. ASSINTOMÁT.
Tipo de RC	n = 137 (37,2%)	n = 51 (13,9%)	n = 154 (41,8%)
RC Vascular	n = 8 (50%)	n = 4 (25%)	n = 3 (18,8%)
VBDS	n = 15 (55,6%)	n = 9 (33,3%)	n = 1 (3,7%)*

* $p \leq 0,05$

TABELA 4

Incidência de VBDS em pacientes que apresentaram rejeição clínica após o 20º dia do TH (Rclin > 20).

Rclin > 20				
		NÃO	SIM	
VBDS	não	277	37	314 (92,1%)
	sim	18	9	27 (7,9%)
		295 (86,5%)	46 (13,5%)	341 (100%)

$p = 0,001$

OR = 3,7

TABELA 5

Incidência de VBDS em pacientes que apresentaram rejeição clínica nos primeiros 20 dias após o TH (Rclin < 20).

		Rclin < 20		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	204	110	314 (92,1%)
	sim	12	15	27 (7,9%)
		216 (63,3%)	125 (36,7%)	341 (100%)

p = 0,03

OR = 2,3

TABELA 6

Incidência de VBDS em pacientes que apresentaram rejeição assintomática (Rass).

		Rass		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	169	145	314 (92,1%)
	sim	26	1	27 (7,9%)
		195 (57,2%)	146 (42,8%)	341 (100%)

p = 0,00002

OR = 0,04

TABELA 7

Incidência de RC vascular em pacientes que apresentaram rejeição assintomática (Rass).

		Rass		
		NÃO	SIM	
RC	não	175	150	325 (95,3%)
	sim	13	3	16 (4,7%)
		188 (55,1%)	153 (44,9%)	341 (100%)

p = 0,03

OR = 0,2

Em relação ao tratamento efetuado, notou-se que os indivíduos com sensibilidade ao tratamento com corticóide, apresentaram associação menor com rejeição crônica ($p \leq 0,05$) e VBDS, ainda que para esta última não tenha sido significativa. Já aqueles resistentes ao tratamento com corticóides mostraram associação significativa com VBDS, 8 de 23 pacientes (34,8%) ($p \leq 0,05$). Quanto ao tratamento com OKT3, 4 dos 12 pacientes com rejeição crônica vascular (33,3%) e 5 dos 23 pacientes com VBDS (21,7%), apresentaram uma associação significativa ($p \leq 0,05$) (Tabela 8). Estes dados também foram corroborados pelo teste exato de Fisher, mas o mais interessante foi constatar que os indivíduos resistentes ao tratamento com OKT3 apresentam 10 vezes mais chances de desenvolver VBDS e 20 vezes mais de evoluir para rejeição crônica vascular (Tabelas 9,10,11,12, e 13).

TABELA 8

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a sensibilidade ao tratamento da rejeição aguda.

CLASSIFICAÇÃO DA REJEIÇÃO			
	CORTICOSENSÍVEL	CORTICORESISTENTE	OKT3
TIPO DE RC	n = 104 (52,3%)	n = 40 (20,1%)	n = 13 (6,5%)
RC Vascular	n = 3 (25%)	n = 3 (25%)	n = 4 (33,3%)*
VBDS	n = 8 (34,8%)	n = 8 (34,8%)*	n = 5 (21,7%)*

* $p \leq 0,05$

TABELA 9

Incidência de VBDS em pacientes sensíveis ao tratamento com corticóides (sens) durante o 1º episódio de rejeição aguda.

SENS				
		NÃO	SIM	
VBDS	não	70	90	160 (87,4%)
	sim	15	8	23 (12,6%)
		85 (46,4%)	98 (53,6%)	183 (100%)

$p = 0,05$

OR = 0,4

TABELA 10

**Incidência de VBDS em pacientes resistentes ao tratamento com corticóides
(Resist) durante o 1º episódio de rejeição aguda.**

		Resist		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	132	28	160 (87,4%)
	sim	15	8	23 (12,6%)
		147 (80,3%)	36 (19,7%)	183 (100%)

p = 0,05
OR = 2,5

TABELA 11

**Incidência de VBDS em pacientes resistentes ao tratamento com OKT3 durante
o 1º episódio de rejeição aguda.**

		OKT3		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	156	4	160 (87,4%)
	sim	18	5	23 (12,6%)
		174 (95,1%)	9 (4,9%)	183 (100%)

p = 0,00007
OR = 10,8

TABELA 12

Incidência de RC vascular em pacientes sensíveis ao tratamento com corticóides (Sens) durante o 1º episódio de rejeição aguda.

		Sens		
		NÃO	SIM	
RC	não	71	93	164 (93,2%)
	sim	9	3	12 (6,8%)
		80 (45,5%)	96 (54,5%)	176 (100%)

p = 0,03

OR = 0,2

TABELA 13

Incidência de RC vascular em pacientes resistentes ao tratamento com OKT3 durante o 1º episódio de rejeição aguda.

		OKT3		
		NÃO	SIM	
RC	não	160	4	164 (93,2%)
	sim	8	4	12 (6,8%)
		168 (95,5%)	8 (4,5%)	176 (100%)

p = 0,0007

OR = 20,0

No que diz respeito à evolução do primeiro episódio de rejeição, notamos que os indivíduos que não apresentaram recidiva da rejeição desenvolveram em número menor do que o esperado rejeição crônica e VBDS ($p \leq 0,05$). Naqueles que apresentaram recidiva precoce, não se observou nenhuma associação com rejeição crônica ou VBDS. É interessante notar que naqueles que apresentaram recidiva após

os 3 meses, ou seja, recidiva tardia, houve uma associação significativa com VBDS ($p \leq 0,05$) (Tabela 14). A possibilidade de desenvolvimento de VBDS ($OR = 0,1$) e rejeição crônica vascular ($OR = 0,07$) é significativamente baixa em pacientes que não apresentavam recidiva, enquanto a recidiva tardia apresenta uma chance maior de desenvolvimento de VBDS ($OR = 4,6$) (Tabelas 15,16 e 17).

TABELA 14

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a evolução do episódio de rejeição aguda.

EVOLUÇÃO			
	SEM RECIDIVA	RECIDIVA PRECOCE	RECIDIVA TARDIA
TIPO DE RC	n = 107 (63,7%)	n = 29 (17,3%)	n = 29 (17,3%)
RC Vascular	n = 1 (14,3%)*	n = 3 (42,9%)	n = 2 (28,6%)
VBDS	n = 4 (28,6%)*	n = 3 (21,4%)	n = 6 (42,9%)*

* $p \leq 0,05$

TABELA 15

Incidência de VBDS em indivíduos que não apresentaram recidiva de rejeição aguda (Sem Rec).

		Sem Rec		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	43	100	143 (91,1%)
	sim	10	4	14 (8,9%)
		53 (33,8%)	104 (66,2%)	157 (100%)

$p = 0.003$

$OR = 0,1$

TABELA 16

Incidência de RC vascular em pacientes que não apresentaram recidiva (Sem Rec) de rejeição aguda.

		Sem Rec		
		NÃO	SIM	
RC	não	45	102	147 (95,5%)
	sim	6	1	7 (4,5%)
		51 (33,1%)	103 (66,9%)	154 (100%)

p = 0,002

OR = 0,07

TABELA 17

Incidência de VBDS em indivíduos que apresentaram recidiva tardia, após 3 meses, de rejeição aguda (Rec > 3m).

		Rec > 3m		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	123	20	143 (91,1%)
	sim	8	6	14 (8,9%)
		131 (83,4%)	26 (16,6%)	157 (100%)

p = 0,01

OR = 4,6

Quanto à gravidade da rejeição observou-se que os pacientes com rejeição grave, apresentavam uma associação significativa com rejeição crônica vascular, 8 de 15 pacientes (53,3%) e VBDS 14 de 24 pacientes (58,3%) ($p \leq 0,05$) (Tabela 18).

TABELA 18
Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a gravidade da rejeição aguda.

	GRAVIDADE		
	LEVE	MODERADA	GRAVE
TIPO DE RC	n = 98 (18,5%)	n = 148 (28%)	n = 105 (19,8%)
RC Vascular	n = 4 (26,7%)	n = 3 (20%)	n = 8 (53,5%)*
VBDS	n = 3 (12,5%)	n = 7 (29,2%)	n = 14 (58,3%)*

* $p \leq 0,05$

A análise separada das lesões que compõem a rejeição aguda permitiu observar que a lesão tipo 3 do infiltrado inflamatório estava associada com rejeição crônica vascular em 7 de 16 pacientes (43,8%) e com VBDS em 13 de 27. (48,1%) ($p \leq 0,05$). Em relação à lesão de canal biliar, notamos que a lesão tipo 2 estava associada em 7 de 16 pacientes (43,8%) com rejeição crônica vascular e a lesão tipo 3 em 10 de 27 doentes (37%) com VBDS ($p \leq 0,05$). A lesão de endotélio venoso do tipo 3 mostrou associação com rejeição crônica vascular em 5 de 16 doentes (31,3%) e a lesão do tipo 2 com VBDS em 14 de 27 pacientes (51,9%) ($p \leq 0,05$). Não foram notadas outras associações significativas nesta análise individual (Tabela 19,20 e 21).

TABELA 19

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a intensidade do infiltrado inflamatório e rejeição aguda.

INTENSIDADE INFILTRADO INFLAMATÓRIO			
	1	2	3
TIPO DE RC	n = 89 (16,2%)	n = 161 (23,5%)	n = 191 (18,4%)
RC Vascular	n = 3 (18,8%)	n = 5 (31,3%)	n = 7 (43,8%)*
VBDS	n = 2 (7,4%)	n = 9 (33,3%)	n = 13 (48,1%)*

* $p \leq 0,05$

TABELA 20

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a intensidade da lesão biliar na rejeição aguda.

INTENSIDADE DA LESÃO BILIAR			
	1	2	3
TIPO DE RC	n = 121 (22%)	n = 128 (23,5%)	n = 60 (10,8%)
RC Vascular	n = 4 (25%)	n = 7 (43,8%)*	n = 2 (12,5%)
VBDS	n = 3 (11,1%)	n = 10 (37%)	n = 10 (37%)*

* $p \leq 0,05$

TABELA 21

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a intensidade da lesão endotelial na rejeição aguda.

INTENSIDADE DA LESÃO ENDOTELIAL			
	1	2	3
TIPO DE RC	n = 134 (24,4%)	n = 128 (23,3%)	n = 49 (8,9%)
RC Vascular	n = 6 (37,5%)	n = 4 (25%)	n = 5 (31,3%)*
VBDS	n = 4 (14,8%)	n = 14 (51,9%)*	n = 4 (14,8%)

* $p \leq 0,05$

Quando analisamos as lesões de canal biliar e endotelial juntas, observamos que a ocorrência de lesões de canal biliar tipo 1 e endotelial tipo 3 estão associadas a rejeição crônica vascular de maneira significativa ($p \leq 0,05$). Outra associação significativa foi observada em pacientes com VBDS e lesão biliar do tipo 3 e endotelial tipo 2, fato que ocorreu em 8 de 27 pacientes (29,6%) ($p \leq 0,05$).

4.3. Mecanismos Não-Imunológicos e Rejeição Crônica:

Na tentativa de se identificar alguma associação entre a indicação para a qual o transplante foi realizado e o desenvolvimento de rejeição crônica, estas indicações foram subdivididas em 6 grupos principais: cirrose pós-hepatite, outras cirroses, carcinoma hepatocelular, colangite esclerosante primária, insuficiência hepática aguda e atresia de vias biliares (Tabela 22). Nesta análise, quando observamos os indivíduos transplantados por cirrose pós-hepatite, notamos que a rejeição crônica tipo VBDS desenvolveu-se em um número menor de pacientes do que o esperado, 5 de 27 de pacientes (18,5%) ($p \leq 0,05$), dados confirmados pelo teste de Fisher ($p =$

0,02; OR = 0,3) (Tabela 23). Por outro lado, o transplante realizado por falência hepática aguda apresentou uma associação maior do que a esperada, sendo que 11 dos 27 pacientes com VBDS haviam sido transplantados por IHA (40,7%) ($p \leq 0,05$). Esta associação foi comprovada pelo teste de Fisher ($p = 0,009$), apresentando um OR = 2,7 (Tabela 24). Não observamos mais nenhuma associação significativa entre indicação e rejeição. O que podemos notar é uma ligeira tendência dos pacientes com colangite esclerosante primária de apresentarem rejeição crônica, 2 de 20 doentes. Quando analisamos separadamente as cirroses pós-hepatite, não observamos diferença significativa, mas uma tendência da cirrose pós-hepatite B e Delta de desenvolverem rejeição crônica.

TABELA 22

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a indicação de TH.

	INDICAÇÃO					
	CIRROSE PÓS- HEPÁT.	CIRROSE (OUTRAS)	CÂNCER	CSP	AGUDAS	ATRESIA VB
TIPO RC	n = 203 (36,9%)	n = 102 (18,5%)	n = 73 (13,3%)	n = 24 (43%)	n = 109 (19,8%)	n = 10 (1,8%)
RC	n = 6 (37,5%)	n = 3 (18,8%)	n = 1 (6,3%)	n = 2 (12,51%)	n = 4 (25%)	n = 0
Vascular						
VBDS	n = 5 (18,5%)	n = 6 (22,2%)	n = 2 (7,4%)	n = 2 (7,4%)	n = 11 (40,7%)*	n = 1 (3,7%)

* $p \leq 0,05$

TABELA 23**Incidência de VBDS em pacientes transplantados por cirrose pós-hepatite.**

		Cirrose Pós-hepatite		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	296	198	494 (94,8%)
	sim	22	5	27 (5,2%)
		318 (61%)	203 (39%)	521 (100%)

p = 0,02

OR = 0,3

TABELA 24**Incidência de VBDS em pacientes transplantados por insuficiência hepática aguda (IHA).**

		IHA		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	396	98	494 (94,8%)
	sim	16	11	27 (5,2%)
		412 (79,1%)	109 (20,9%)	521 (100%)

P = 0,009

OR = 2,7

4.4. Citomegalovírus e Rejeição Crônica:

Em relação à sorologia para o CMV, 271 doadores eram positivos e 206 negativos. Dos receptores, 438 eram positivos e 112 eram negativos (Tabela 25). Já a relação doador-receptor apresentou os seguintes resultados: em 42 casos (8,8%) o doador era positivo e o receptor era negativo, em 47 (9,9%) doador e receptor eram

negativos, e a grande maioria 388 casos (81,3%) o receptor era positivo e o doador positivo ou negativo. A infecção por citomegalovírus foi observada em 161 pacientes (31,8%), sendo que em 80 (15,8%) foi sintomática, e em 81 (16%) foi assintomática.

TABELA 25

Frequência da sorologia para CMV em doadores e receptores.

	SOROLOGIA	
	POSITIVO	NEGATIVO
CMV Doador	n = 271 (56,8%)	n = 206 (43,2%)
CMV Receptor	n = 438 (79,6%)	n = 112 (20,4%)

Não se observou diferença significativa em relação à sorologia do CMV do doador e do receptor com relação à rejeição crônica. Quando analisamos a relação doador-receptor para o transplante, não se observa diferença estatística com relação à rejeição crônica, o que notamos é uma frequência menor do que a esperada de VBDS em pacientes na combinação doador positivo receptor negativo, ainda que não haja significância (Tabela 26). Em relação à ocorrência ou não de infecção por citomegalovírus e desenvolvimento de rejeição crônica, observamos que existe uma associação entre infecção por CMV sintomática, e o desenvolvimento de VBDS, que ocorreu em 8 de 80 pacientes (34,8%) ($p \leq 0,05$). Não se observou nenhuma associação significativa entre a ausência de infecção por citomegalovírus ou infecção assintomática com o desenvolvimento de rejeição crônica (Tabela 27). Quando analisamos as tabelas 2X2 confirma-se a maior possibilidade de ocorrência de VBDS em pacientes que apresentaram infecção por CMV sintomática ($p = 0,01$; OR = 3,1) (Tabela 28).

TABELA 26

Distribuição dos casos de rejeição crônica e diminuição de canais biliares (Dim CB) de acordo com a sorologia CMV de doador e receptor.

SOROLOGIA CMV			
	D + / R -	D - / R -	D + / R +
TIPO DE RC	n = 42 (8,8%)	n = 47 (9,9%)	n = 388 (81,3%)
RC Vascular	n = 1 (6,7%)	n = 6,7%)	n = 13 (86,7%)
VBDS	n = 0	n = 2 (10%)	n = 18 (90%)

* $p \leq 0,05$

TABELA 27

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a presença de infecção por CMV.

INFECÇÃO POR CMV			
	NÃO	SINTOMÁTICA	ASSINTOMÁTICA
TIPO DE RC	n = 345 (68,2%)	n = 80 (15,8%)	n = 81 (16%)
RC Vascular	n = 9 (64,3%)	n = 4 (28,6%)	n = 1 (7,1%)
VBDS	n = 14 (60,9%)	n = 8 (34,8%)*	n = 1 (4,3%)

* $p \leq 0,05$

TABELA 28

Incidência de VBDS em pacientes que apresentaram infecção por CMV sintomática (CMV sint).

		CMV sint		
		NÃO	SIM	
VBDS	não	390	66	456 (99,2%)
	sim	15	8	23 (4,8%)
		405 (84,6%)	74 (15,4%)	479 (100%)

$p = 0,01$

OR = 3,1

4.5. Compatibilidade HLA e ABO

No grupo de pacientes estudado, 504 apresentavam grupo ABO idêntico e 46 eram compatíveis. Em relação à tipagem HLA-A, 39 pacientes apresentavam compatibilidade total, 223 compatibilidade parcial e 249 incompatibilidade HLA-A. Quanto ao HLA-B, 25 pacientes apresentavam compatibilidade total, 154 compatibilidade parcial e 346 incompatibilidade. Já em relação ao HLA-DR, 26 apresentavam compatibilidade, 217 compatibilidade parcial e 229 incompatibilidade.

Não se observou nenhuma associação significativa entre a tipagem HLA-A, B e DR em relação ao desenvolvimento de rejeição crônica (Tabelas 29 e 30). Já em relação à compatibilidade ABO, existe um número maior do que o esperado de pacientes em ABO compatível que desenvolveram VBDS em 5 de 46 (10,87%) ($p \leq 0,05$) (Tabela 31). Da mesma forma, existe um número menor do que o esperado de pacientes em grupo ABO idêntico que desenvolveram VBDS, 22 de 504 ($p \leq 0,05$). Além disso, ainda que não significativa, existe uma forte tendência dos indivíduos

transplantados em ABO compatível de apresentarem diminuição de canais biliares, 3 de 46.

TABELA 29

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com o cruzamento dos antígenos de histocompatibilidade de classe I.

	HLA - A			HLA - B		
	0	1	2	0	1	2
TIPO RC	n = 39 (7,1%)	n = 223 (40,5%)	n = 249 (45,5%)	n = 25 (4,5%)	n = 154 (28%)	n = 346 (62,9%)
RC	n = 2 (12,5%)	n = 7 (43,8%)	n = 7 (43,8%)	n = 3 (18,8%)	n = 6 (37,5%)	n = 7 (43,8%)
Vascular						
VBDS	n = 3 (11,1%)	n = 11 (40,7%)	n = 13 (48,1%)	n = 2 (7,4%)	n = 6 (22,2%)	n = 19 (70,4%)

TABELA 30

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com o cruzamento dos antígenos de histocompatibilidade de classe II.

	HLA - DR		
	0	1	2
TIPO DE RC	n = 26 (4,7%)	n = 217 (39,5%)	n = 229 (41,6%)
RC Vascular	n = 3 (18,8%)	n = 6 (37,5%)	n = 7 (43,8%)
VBDS	n = 3 (11,1%)	n = 14 (51,9%)	n = 10 (37%)

TABELA 31

Distribuição dos casos de rejeição crônica de acordo com a compatibilidade de grupo sanguíneo ABO.

	COMPATIBILIDADE ABO	
	IDÊNTICO	COMPATÍVEL
TIPO DE RC	n = 504 (91,6%)	n = 46 (8,4%)
RC Vascular	n = 16 (100%)	n = 0
VBDS	n = 22 (81,5%)*	n = 5 (18,5%)*

* $p \leq 0,05$

4.6. Sobrevida dos Pacientes e Enxertos após Transplante Hepático ABO Incompatível:

A sobrevida a 1 e 5 anos destes pacientes foi de 52% e 50%, respectivamente (Figura 1). Dezoito pacientes (45%) morreram no período pós-operatório imediato (Tabela 32). Destes, nove morreram como consequência direta da urgência médica e ou da doença primária que levou ao transplante, incluindo parada cardíaca intra-operatória (n=3), descerebração devido a edema cerebral (n=3), hemorragia intracerebral como complicação de monitorização da pressão intracraniana (n=1), disfunção primária devido a qualidade precária do único enxerto possível (n=1) ou fistula esofagotraqueal secundária a ingestão cáustica em um paciente com insuficiência hepática por ingestão de drogas que havia tentado o suicídio. Nos restantes 9 pacientes, a morte estava relacionada a sepse, que foi favorecida por um aumento da imunossupressão, quer pelo uso de uma imunoprofilaxia quádrupla, pelo tratamento de uma rejeição aguda, ou por transplantes prévios. Houve duas mortes

tardias, uma por câncer um ano após o transplante, e outra no momento do terceiro retransplante, 3.3 anos mais tarde.

TABELA 32

Período e causa da morte em 40 pacientes submetidos a TH em incompatibilidade ABO.

Nº TH	IDADE/SEXO	INDICAÇÃO DO TH	ÓBITO (DIA P.O.)	CAUSA DA MORTE
95	36/M	IHA	intra-operatório	parada cardíaca
617	37/F	IHA	intra-operatório	parada cardíaca
60	50/M	Re TH	intra-operatório	parada cardíaca
508	22/F	IHA	0	descerebração
260	30/F	IHA	0	descerebração
602	34/M	IHA	4	descerebração
361	25/M	IHA	2	hemorragia intra-cerebral
430	30/F	IHA	18	fístula esôfago-traqueal, sepse
61	26/F	IHA	21	não funcionamento do enxerto
527	37/F	IHA	14	sepse (ABO incomp)
714	56/F	IHA	24	sepse (ABO incomp)
365	42/F	IHA	52	sepse (ABO) incomp)
533	35/M	cirrose	54	sepse (ABO incomp)
802	20/M	IHA	60	sepse (ABO incomp)
240	44/M	ReTH	79	sepse (ABO incomp)
455	55/F	IHA	28	sepse (2. ReTH)
360	31/M	IHA	40	sepse (reTH)
304	18/F	IHA	23	sepse (3. ReTH)
109	22/F	IHA	1212	intra-operatório (3. ReTH), hipóxia
387	32/M	IHA	335	neoplasia (com enxerto incomp)

A sobrevida a 1 e 5 anos do enxerto foi de 30 e 20%, respectivamente (Figura1). Dezesesseis pacientes necessitaram de 1 a 3 retransplantes e no total 1,6 enxertos foram utilizados para cada paciente.

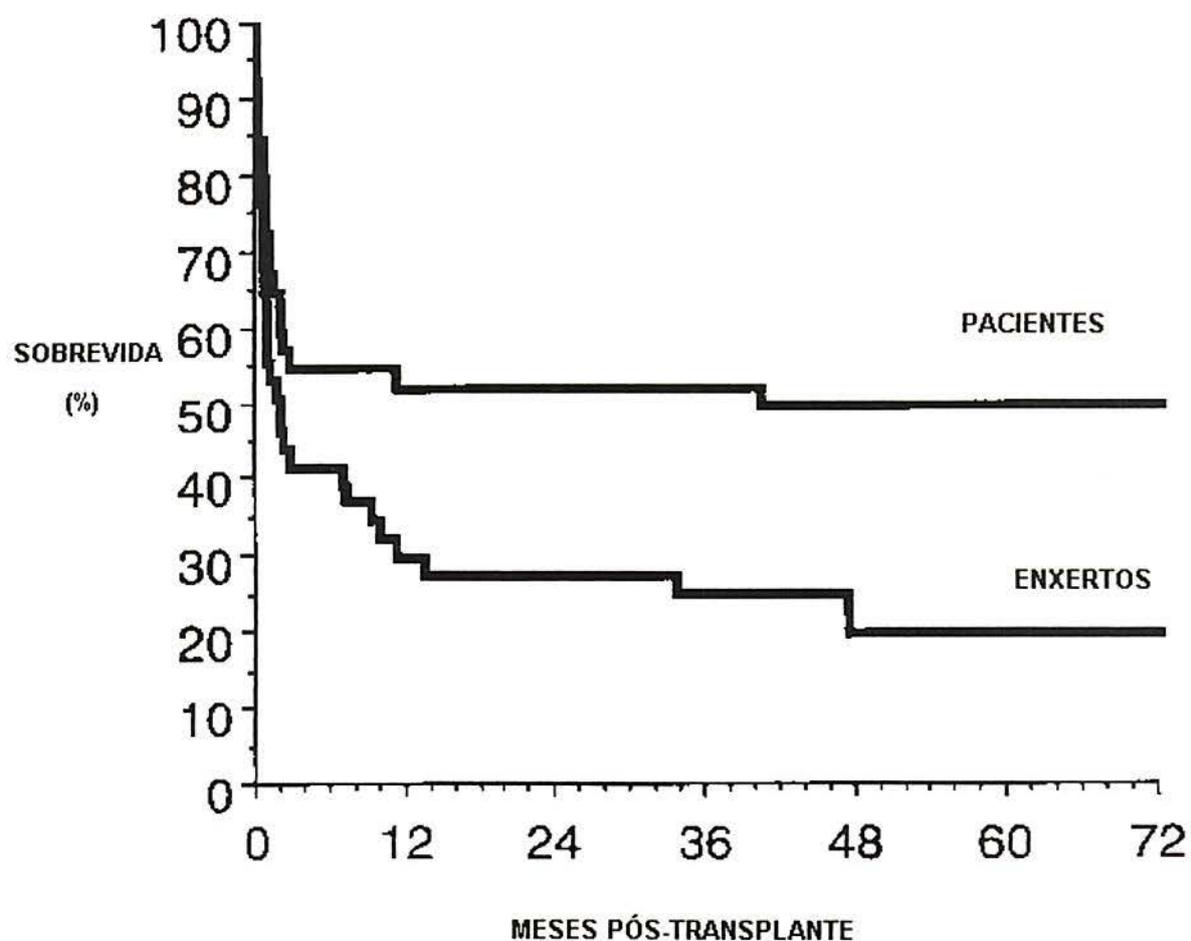


FIGURA 1 - Sobrevida atuarial de pacientes e enxertos em 40 pacientes (43 TH) que receberam enxerto ABO incompatível. Linha superior, sobrevivência dos pacientes. Linha inferior, sobrevivência dos enxertos.

4.7. Impacto da Incompatibilidade ABO na Evolução

Com o objetivo de observar o impacto da incompatibilidade ABO na evolução, a sobrevida dos pacientes e enxertos foi posteriormente avaliada em um grupo único de pacientes transplantados em regime de emergência para insuficiência hepática fulminante ou subfulminante. Os 36 pacientes que receberam enxertos ABO incompatível tinham características pré e per-operatórias comparáveis àqueles 111 que receberam um enxerto ABO idêntico ou compatível (Tabela 33), exceto por uma maior percentagem de coma grau 3 em pacientes do grupo incompatível que no outro grupo. A sobrevida de pacientes transplantados com enxerto incompatível foi menor do que aqueles doentes que receberam enxertos idênticos ou compatíveis (Figura 2A), mas não foi significativa ($P=0.09$). Por outro lado, a sobrevida do enxerto foi significativamente menor em pacientes com enxertos incompatíveis do que naqueles com enxertos idênticos ou compatíveis ($p=0.0002$). (Figura 2B).

TABELA 33

Características dos pacientes transplantados por hepatite fulminante com enxerto ABO incompatível ou com enxertos idênticos ou compatíveis.

CARACTERÍSTICAS	ABO INCOMPATÍVEL		ABO IDÊNTICO OU COMPATÍVEL
N. de pacientes	36		111
Idade (média +/- DP anos)	31,9 +/- 10,7	p = 0,45	33,8 +/- 12,6
Intervalo Ict. - encef. (dias)	11,7 +/- 14,4	p = 0,10	17,3 +/- 18,0
Fator V pré-op. (média +/- DP %)	12,4 +/- 4,8	p = 0,11	14,3 +/- 6,2
Creatinina plasma pré-op. (média +/- DP)	142,6 +/- 99,5	p = 0,93	140,9 +/- 10,15
Bilirrubina plasma pré-op. (média +/- DP)	433,3 +/- 201,4	p = 0,72	417,4 +/- 212,8
Encefalopatia pré-op. (% coma grau 3)	76,5	p < 0,01	45,12
Qualidade do enxerto (% esteatose)	17,6	p = 0,51	11,0
Tamanho do enxerto (% de reduzidos)	11,7	p = 0,58	8,5

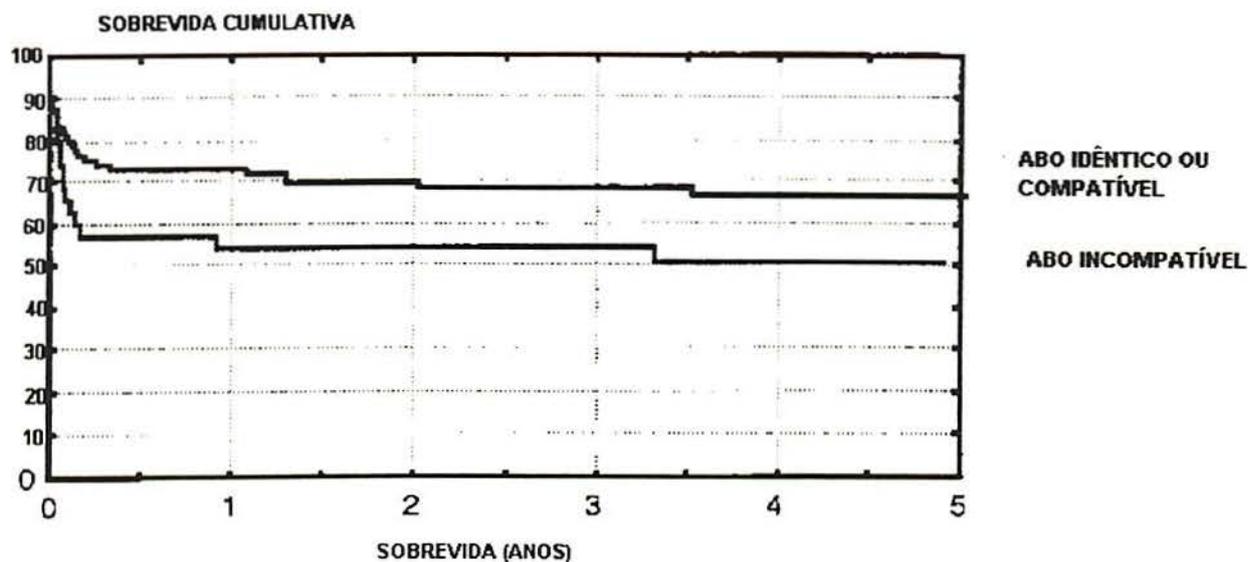
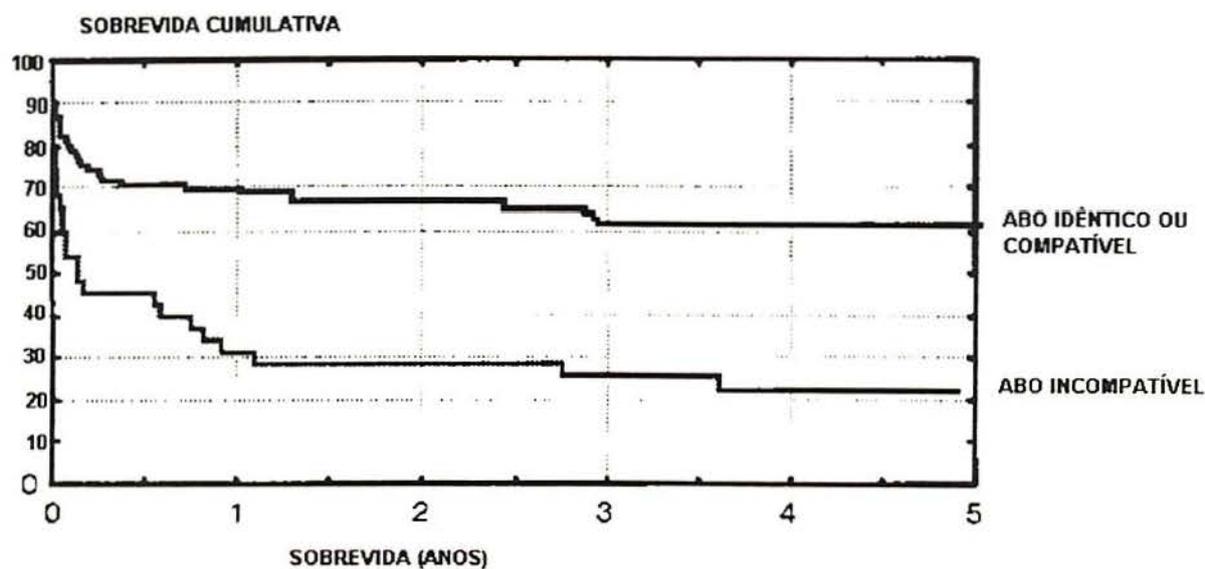
FIGURA 2A**FIGURA 2B**

FIGURA 2 - Sobrevida atuarial de pacientes (2-A) e enxertos (2-B) em pacientes transplantados por insuficiência hepática aguda com enxerto ABO incompatível ou em ABO idêntico ou compatível. A diferença na sobrevivência dos pacientes não foi significativa ($p=0,09$), mas foi altamente significativa entre os enxertos ($p=0,0002$), usando o logrank teste.

4.8. Rejeição Hiperaguda e Aguda

A rejeição hiperaguda, com confirmação através de biópsia ocorreu em 8 pacientes (20%), sendo seu início intra-operatório em 2. Nestas situações, o fígado, que estava inicialmente bem reperfundido, tornou-se aumentado de volume, de coloração marrom escura e de aspecto moteado. Nos restantes 6 pacientes (Tabela 34), a rejeição hiperaguda desenvolveu-se com intervalo de tempo entre 1 e 9 dias após o transplante, e resultou em um marcado aumento nas transaminases e uma diminuição no tempo de protrombina (Figura 3A). Sete destes pacientes foram submetidos a um retransplante de emergência, enquanto em um paciente este episódio de rejeição hiperaguda regrediu e as provas de função hepática retornaram a valores próximos do normal (Figura 4).

TABELA 34

Características dos pacientes que desenvolveram rejeição hiperaguda (RHA) após TH ABO incompatível.

N. TH	INÍCIO DA RHA (DIAS)	ISQUEMIA FRIA duração/(h)	TROMBOSE VASCULAR	EVOLUÇÃO DA RHA	EVOLUÇÃO PACIENTE
COM BIÓPSIA					
240	intra-op.	5:55	TAH*	resolução	óbito, sepse (d 79)
262	intra-op.	12:30	-	ReTH d.2	óbito, decerebração, d.1
212	1	5:50	TAH*	ReTH d.6	vivo
109	2	NI	-	ReTH d.2	vivo
174	6	7:45	-	ReTH d.6	vivo
304	8	6:10	-	ReTH d.12	óbito, sepse (d.23)
455	9	10:00	-	ReTH d. 12	óbito, sepse (d.28)
80	9	NI	TAH	ReTH d. 13	vivo
SEM BIÓPSIA					
602	2	7:55	-	-	óbito, decerebração (d.4)
83	1	5:20	-	resolução	vivo
110	14	NI	TVP*	ReTH d. 26	vivo

NI, não informado; TAH, trombose de artéria hepática; TVP, trombose de veia porta; * Artéria hepática e veia porta patentes no momento do início do episódio.

Três outros pacientes (7,5%) tiveram episódio agudo de disfunção hepática não relacionada a trombose vascular (Tabela 34). Ainda que nestes casos não tenhamos obtido documentação histológica do fígado, o quadro bioquímico (citólise maciça e insuficiência hepática sem colestase) e a rapidez do seu início eram compatíveis com um episódio de rejeição hiperaguda. Em um destes pacientes, também os testes de função hepática voltaram ao normal espontaneamente.

A rejeição aguda desenvolveu-se em 15 pacientes (47% de 32 pacientes que sobreviveram mais de 2 dias), dos quais 5 não foram confirmados pela biópsia. Estes episódios ocorreram 5 a 20 dias após o transplante (média de 7 dias). Dois pacientes em uso de imunoprofilaxia tripla necessitaram, em adição aos esteróides, um ciclo de terapia com OKT3.

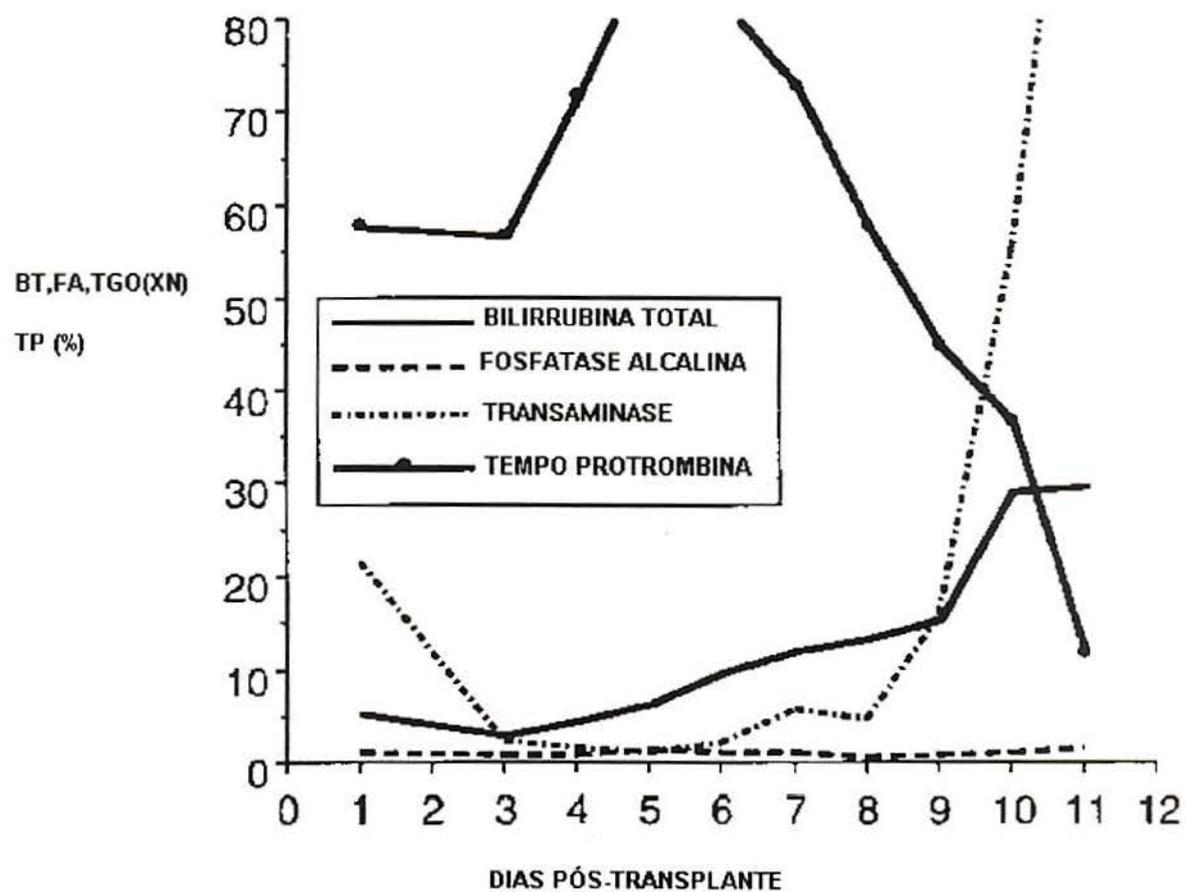
FIGURA 3-A

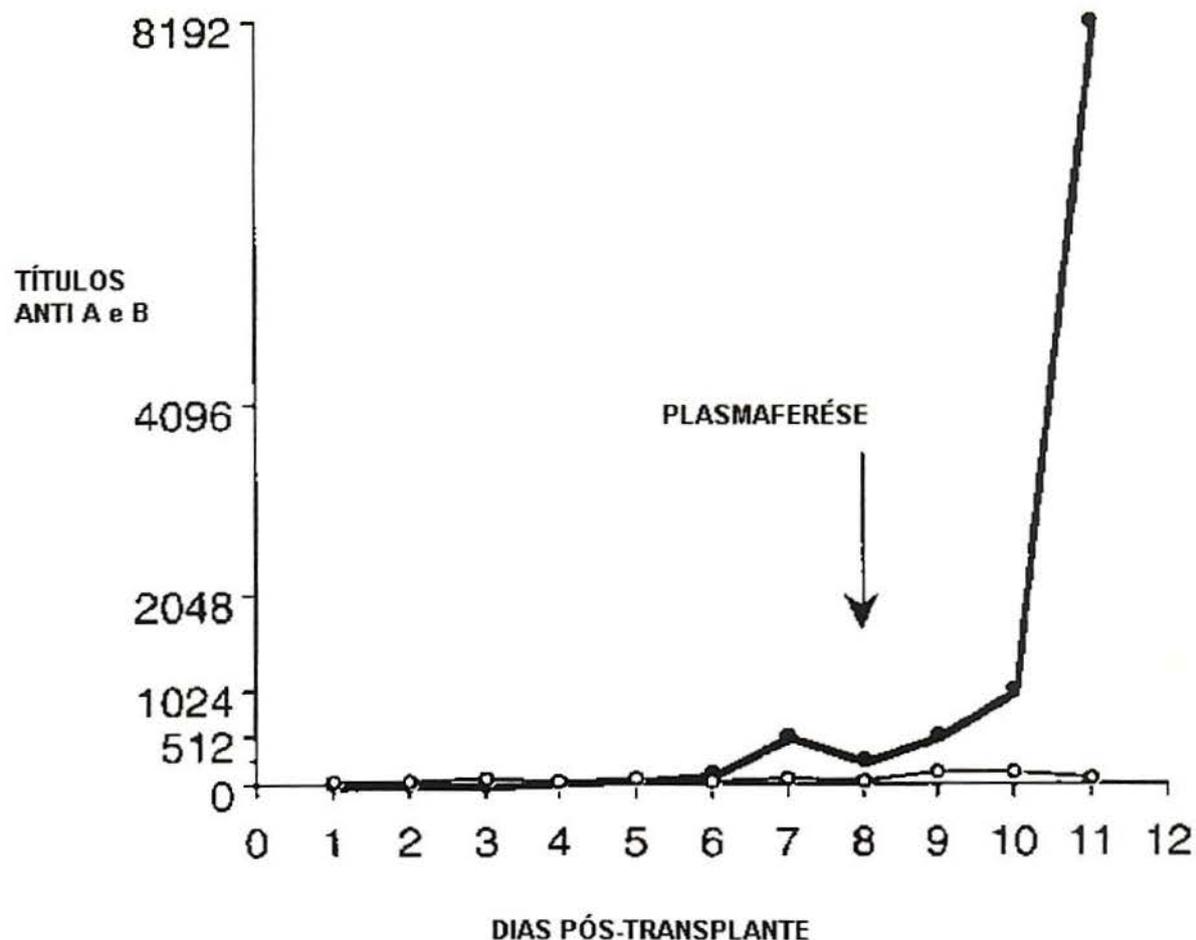
FIGURA 3-B

FIGURA 3 - Exemplo representativo do curso clínico de uma rejeição hiperaguda tardia em um paciente do grupo O que recebeu um enxerto do grupo A. (3-A) Provas de função hepática. (3-B) Títulos de anticorpos anti-A (específicos do doador, círculo fechado) e B (não-específicos do doador, círculo aberto).

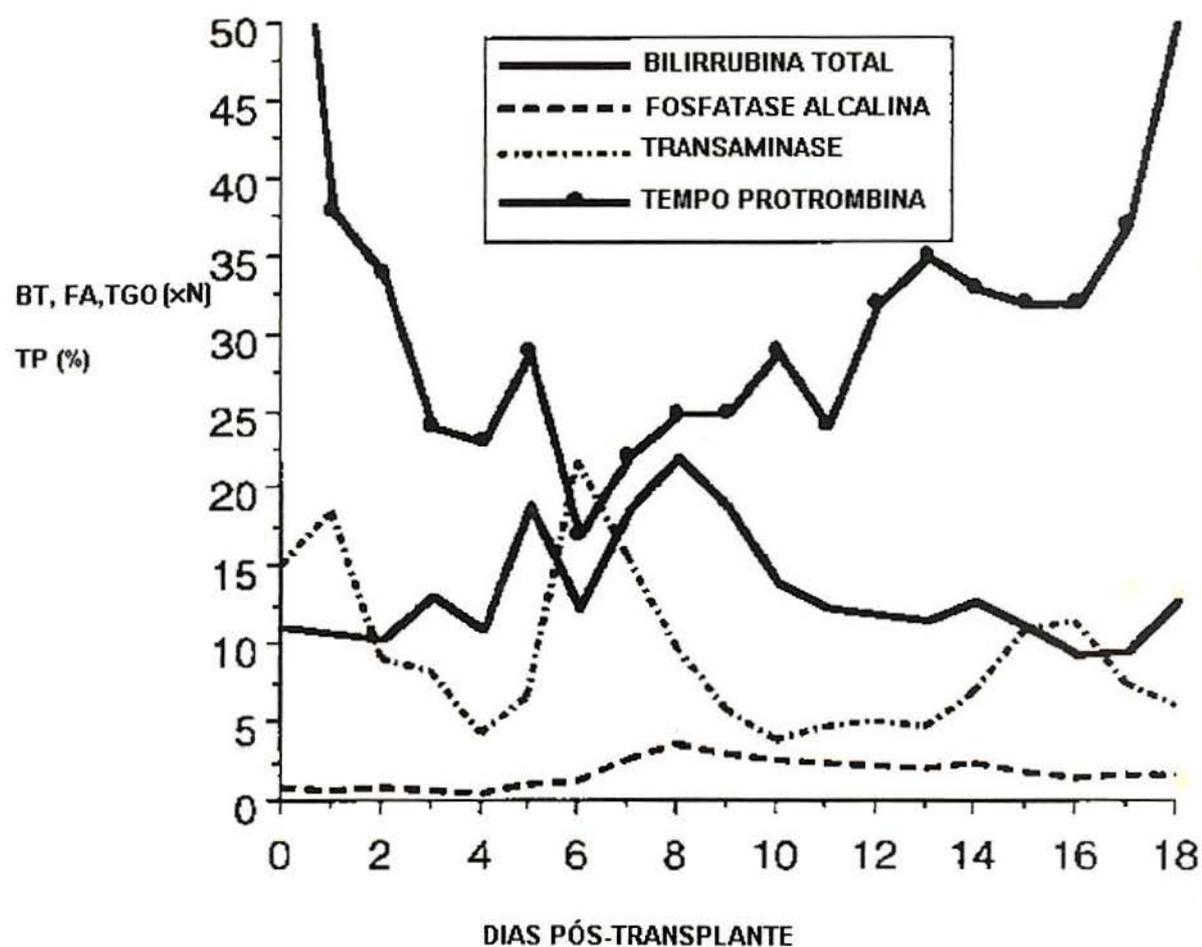


FIGURA 4 - Exemplo representativo do curso clínico de um episódio de rejeição hiperaguda em resolução.

4.9. Complicações Biliares e Vasculares

O desenvolvimento de complicações biliares ou vasculares ocorreu em 18 pacientes (56% de 32 doentes que sobreviveram mais de 2 dias). Trombose da artéria hepática (TAH) foi uma complicação identificada em 9 pacientes, entre 6 e 200 dias após o transplante (média de 39 dias). Já a trombose da veia porta (TVP) ocorreu em quatro pacientes, entre 6 e 21 dias pós-transplante, sendo limitada em um paciente ao ramo esquerdo e difusa em outros três. É de ressaltar que avaliações ultrassonográficas repetidas demonstraram, em um destes pacientes, que o trombo iniciado no leito vascular intra-hepático, subseqüentemente progrediu para baixo em direção ao tronco portal. O tratamento destes 3 pacientes com TVP difusa consistiu em anastomose mesentérico-caval seguida de retransplante em dois deles, enquanto o terceiro paciente rapidamente desenvolveu cavernoma e não foi necessário nenhum tratamento específico. As complicações biliares incluíram lesões dos ductos biliares intra-hepáticos, que resultaram em um aspecto colangiográfico de colangite esclerosante em nove pacientes e necrose do ducto biliar comum, que ocorreu como consequência de TAH, em 2 pacientes (Tabela 35). O retransplante foi o único tratamento de sucesso para estas complicações. Um outro paciente desenvolveu uma estenose focal da anastomose bilio-biliar que foi tratada com sucesso por uma reparação biliar cirúrgica.

TABELA 35

Resultados do tratamento em pacientes com lesão biliar.

Nº TH	TIPO DE LESÃO	INÍCIO (DIAS)	TRATAMENTO	EVOLUÇÃO
240	Necrose DBC	70	drenagem biliar	óbito.sepse(79 P.O.)
365	CS	30	drenagem biliar	óbito.sepse(52 P.O.)
55	CS	97	HJA	vivo,PFH normais
196	CS	19	HJA	colangite recorrente. ReTH (d. 1007)
354	CS	36	HJA	colestase persistente. Aguarda ReTH
454	Estenose anast.	14	HJA	vivo, PFH normais
581	CS	150	ReTH(d. 298)	vivo, PFH normais
359	CS	14	ReTH (d. 400)	vivo, PFH normais
165	CS	108	ReTH (d.274)	vivo, PFH normais
684	Necrose DBC	68	ReTH (d. 201)	ReTH por TAH; vivo, PFH normais
178	CS	60	ReTH (d. 211)	vivo, PFH normais
831	CS	16	ReTH (d. 80)	vivo, PFH normais

CS: Lesões tipo colangite esclerosante; DBC: ducto biliar comum; HJA: hepaticojejunoanastomose; TAH: trombose de artéria hepática; PFH: provas de função hepática.

4.10. Evolução após o Transplante

Houve oito retransplantes precoces por rejeição aguda severa ou hiperaguda entre o dia 1º e 25º do pós-operatório, sete retransplantes eletivos tardios entre o dia 80º e 1007º pós-operatório por lesão biliar intra-hepática difusa e um retransplante no dia 1467º por um carcinoma hepatocelular que desenvolveu-se no enxerto primário.

Cinco retransplantes precoces foram realizados com um enxerto em grupo idêntico ou compatível. Dois pacientes morreram, por septicemia, nos dia 11 e 15 do

pós-operatório, um paciente morreu por descerebração e dois pacientes estão vivos e bem depois de mais de 5 anos. Três outros retransplantes de emergência foram realizados com enxerto incompatível que expressavam antígenos de grupo idêntico ou semelhante ao enxerto primário (Tabela 36). Nenhum desses pacientes desenvolveu rejeição hiperaguda que necessitou retransplante. Os oito pacientes que foram submetidos a retransplante eletivo estão vivos e bem com um período de acompanhamento entre 1 e 5 anos.

TABELA 36

Evolução dos pacientes submetidos a dois TH em incompatibilidade ABO.

N. TH	RECEPTOR GRUPO	1. ENXERTO GRUPO	2. ENXERTO GRUPO*	EVOLUÇÃO
80	0	AB	A	vivo com enxerto incomp. (4 anos) PFH e histologia normais
109	0	A	A	ReTh por TVP (d. 26). RHA c/ resolução espontânea, sem biópsia
455	0	A	A	ReTH d. 1 PFH e histologia normais

* Indicação de ReTH foi rejeição hiperaguda do primeiro enxerto incompatível. TVP, trombose de veia porta; PFH, provas de função hepática, RHA, rejeição hiperaguda.

4.11. Anticorpos Anti Grupo Sangüíneo AB após Transplante e Eficácia da Plasmaferese

Nas primeiras 24 horas após o transplante verificou-se uma marcada redução nos títulos de anticorpos específicos anti grupo sangüíneo AB do doador comparado aos títulos do pré-operatório, enquanto que os anticorpos não específicos permaneceram iguais ou apresentaram redução mínima (Figura 5). Esta redução foi ainda maior em pacientes com altos títulos de anticorpos pré-operatórios. Estas observações são compatíveis com uma deposição precoce destes anticorpos dentro do enxerto ABO incompatível.

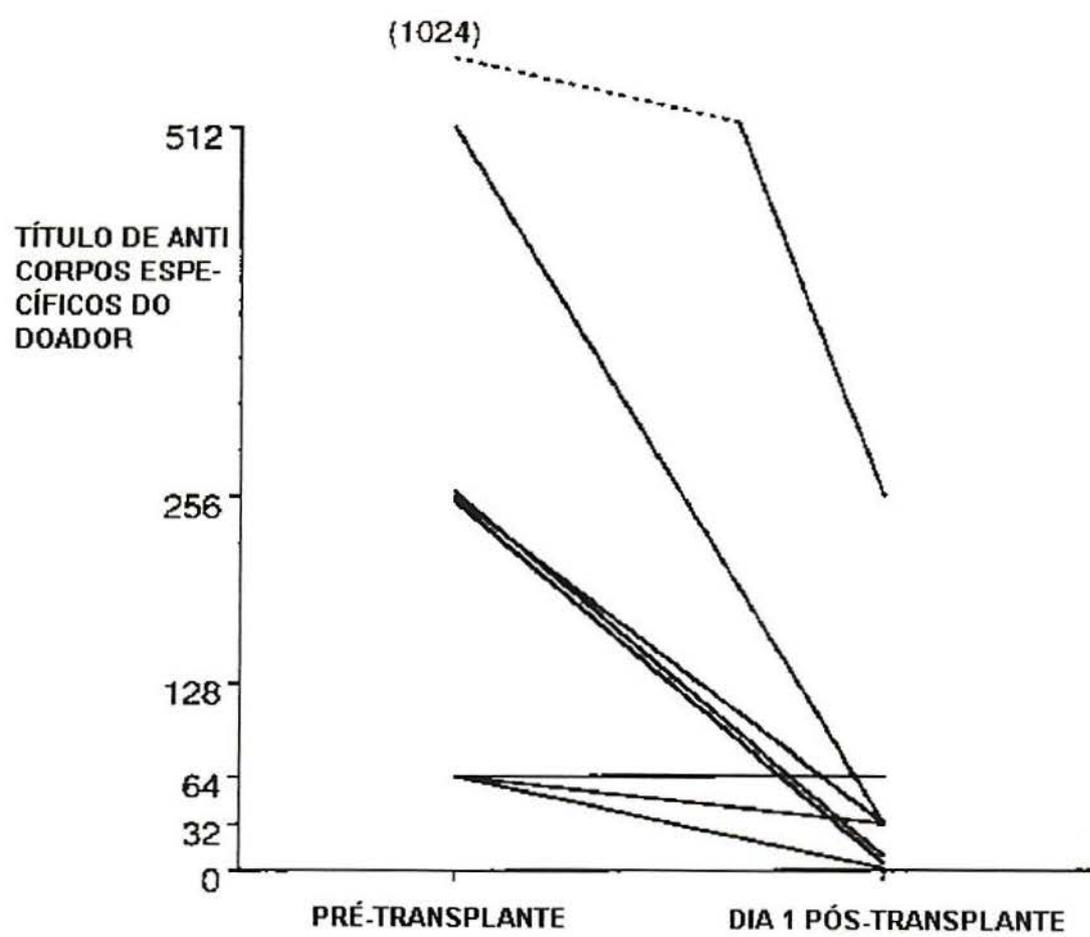
FIGURA 5-A

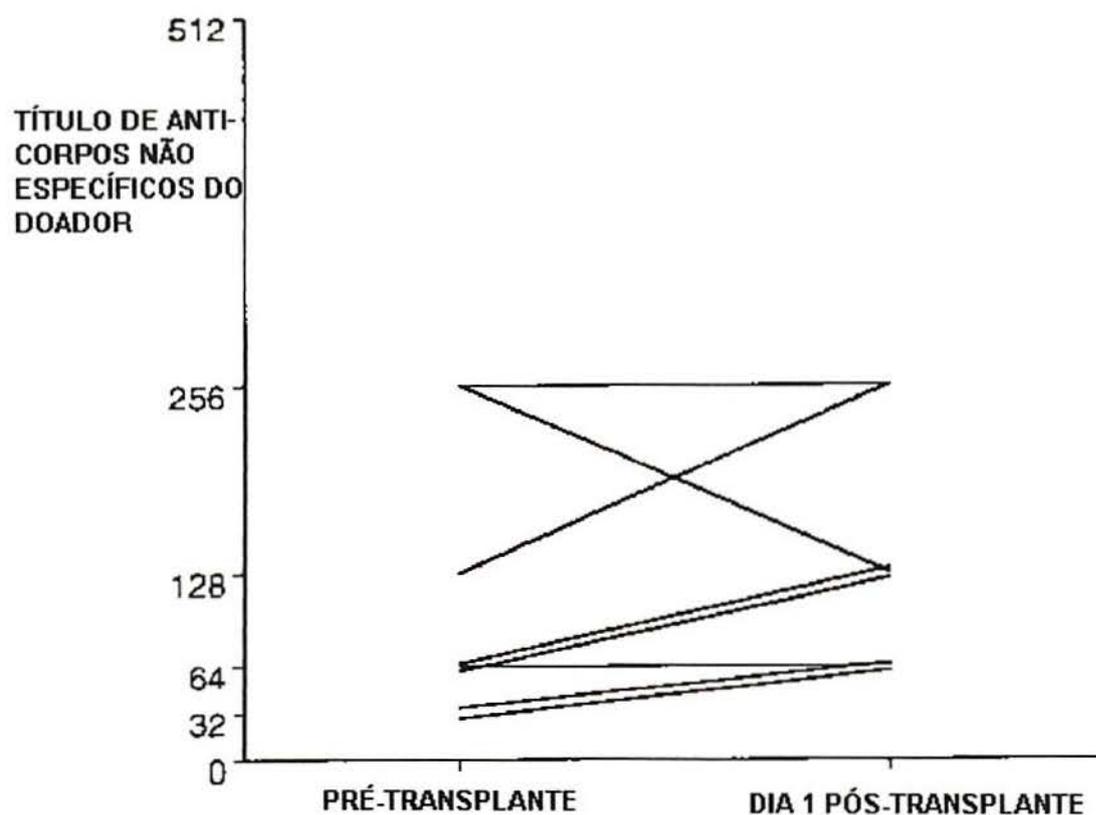
FIGURA 5-B

FIGURA 5 - Influência do transplante nos anticorpos A ou B do doador. Os títulos de anticorpos (poliglobulinas) foram medidos antes e 24 horas após o TH. (5-A) Anticorpos específicos do doador; (5-B) Anticorpos não-específicos do doador.

A cinética dos títulos de anticorpos específicos do doador foi extremamente variável, mas todos os pacientes testados demonstraram um pico (a média é 32 vezes maior quando comparada aos títulos no primeiro dia pós-operatório) entre os dias 6 e 13, e subseqüentemente ocorreu uma diminuição espontânea (Figura 6). Os títulos de anticorpos não específicos do doador, por outro lado, demonstraram flutuações menores, exceto em 4 pacientes em que um pico importante foi observado, geralmente no mesmo momento dos anticorpos específicos, e a sua elevação era comparável ou mesmo maior que aquela dos anticorpos específicos do doador.

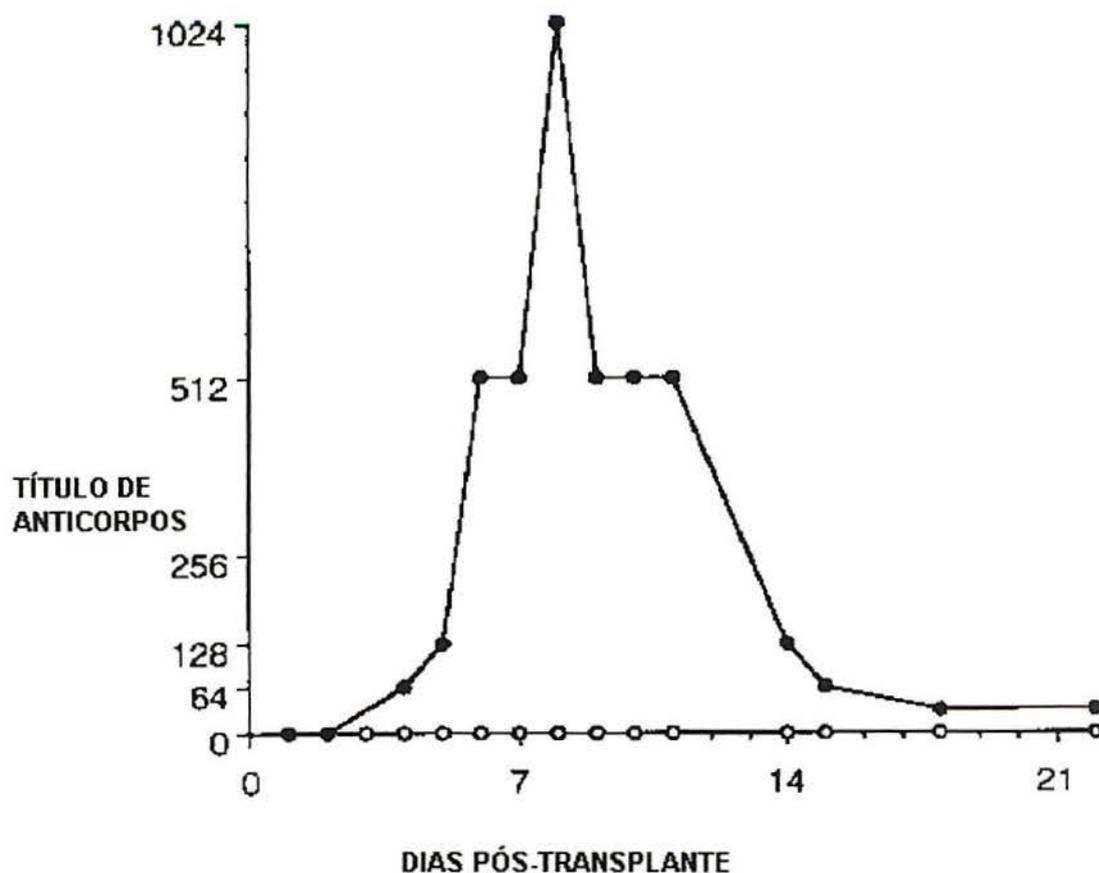


FIGURA 6 - Exemplo representativo da cinética dos títulos anti-B em um receptor do grupo A de um fígado do grupo B. Observe que o pico atingido no 8º dia pós-operatório desapareceu espontaneamente após.

Quatorze ciclos de plasmaferese foram realizados em 9 pacientes. Nas primeiras 24 horas após a plasmaferese, houve uma redução de pelo menos 2 vezes dos títulos de anticorpos de grupo sanguíneo do doador em 8/9 pacientes (Figura 7). A cinética dos anticorpos AB foi posteriormente extremamente variável. Os títulos de grupo sanguíneo do doador permaneceram baixos (1/32) e não mostraram flutuações significativas em três pacientes. Em cinco pacientes os títulos variaram marcadamente em poucos dias após a plasmaferese, atingindo 1/256, e após

diminuíram, permanecendo abaixo de 1/64 entre a segunda e quarta semana pós-operatória. No último paciente, a plasmáfereze foi seguida por marcado aumento nos títulos de anticorpos ao mesmo tempo em que ocorria episódio de rejeição hiperaguda (Figura 3B).

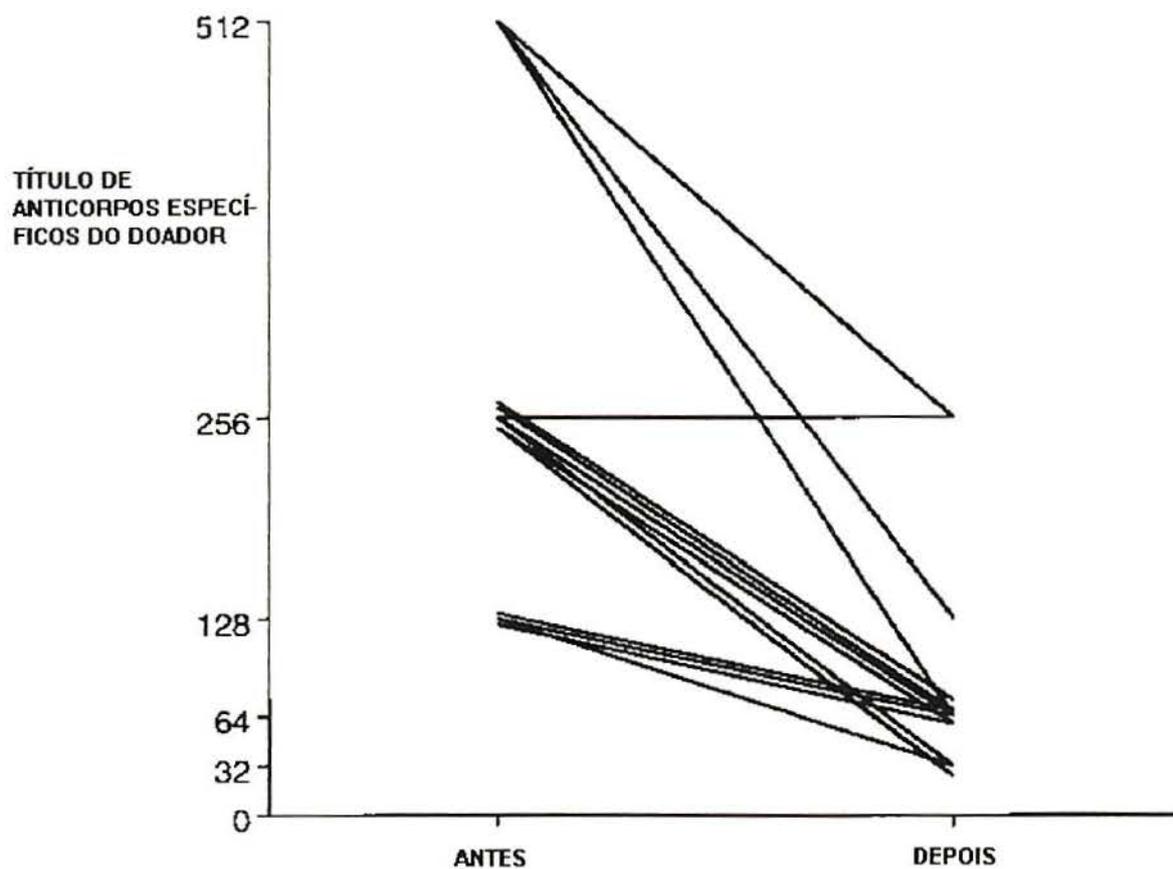


FIGURA 7 - Influência da plasmáfereze nos anticorpos A ou B do doador. Os títulos de anticorpos (poliglobulinas) foram medidos antes e 24 horas após a plasmáfereze.

4.12. Análise de Fatores de Risco para Rejeição Hiperaguda, Complicações Biliares e Trombose de Artéria Hepática

A ocorrência de títulos elevados de anticorpos antiggrupo sanguíneo A B no momento ou imediatamente após o transplante, a longa duração da isquemia fria e o uso de enxertos esteatósicos não estavam associados com risco aumentado de rejeição hiperaguda. A adição de SAL ou GAT ao regime imunoprolático triplo esteve associado com uma reduzida incidência de rejeição (grupo 1x2, $P = 0,04$) e uma aumentada incidência de complicações sépticas, apesar da diferença não atingir significado estatístico (Tabela 37). A incidência de rejeição hiperaguda foi, entretanto, similar nos grupos de pacientes 1, 2, e 3. A introdução retardada de SAL ($RR = 8,5$, $P = 0,013$) ou ciclosporina ($RR = 6$, $P = 0,037$) estiveram associadas com uma incidência aumentada de rejeição hiperaguda. O risco de complicações biliares ou vasculares não teve correlação com o regime imunoprolático utilizado. O uso de plasmaferese esteve associado com uma incidência maior de complicações sépticas ($46,1\% \times 11,1\%$, $P = 0,029$).

TABELA 37

Incidência de rejeição, complicações biliares e/ou trombose da artéria hepática (TAH) e complicações sépticas em receptores de um enxerto ABO incompatível em relação ao regime imunossupressor.

	GRUPO 1 (N=9)	GRUPO 2 (N=8)	GRUPO 3 (N=10)	GRUPO 4 (N=8)	
<u>Imunossupressão</u> ¹					
Esteróides	+	+	+	+	
Azatioprina	+	+	+	+	
SAL	+	0	+	tardia	
Ciclosporina	+	+	tardia	tardia	
Rejeição Hiperaguda (RHA)	1	1	1	7	p < 0,005 ²
RHA e/ou rej. aguda	2	6	5	8	p < 0,05 ³
Complic. biliares e/ou TAH	3	4	5	3	NS ⁴
Sepse	5	2	8	4	p < 0,05 ⁵

- 1) (+), imunossupressão ideal; (0) SAL não fazia parte do esquema antes de maio de 1989; (tardia), introdução tardia quando comparada com imunossupressão ideal.
- 2) Grupo 4 versus 1,2 e 3. Outras diferenças não significativas.
- 3) Grupo 1 versus 2 e 4. Outras diferenças não significativas.
- 4) Nenhuma diferença significativa
- 5) Grupo 2 versus 3. Outras diferenças não significativas.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1. Fatores Prognósticos de Rejeição Crônica

O estudo da rejeição crônica após transplante hepático é extremamente difícil, e uma das principais causas é o grande número de definições aceitas para este problema. Nós concordamos e utilizamos a definição de rejeição crônica proposta por FREESE et al. (1991), que associa características clínicas e padrões histológicos bem definidos. Quando este conceito foi aplicado, nós observamos uma incidência de rejeição crônica de 7,8% (43 de 550 pacientes). Destes, 27 (4,9%) apresentavam a síndrome de rarefação de canais biliares (VBDS).

A grande maioria dos pacientes com rejeição crônica do grupo estudado, apresentou um episódio prévio de rejeição aguda clínica, 78,3% daqueles que desenvolveram VBDS. Entretanto, a análise de nossos dados deixa claro não existir diferença entre rejeição aguda precoce e tardia em relação à evolução para rejeição crônica. Nesta série, episódios de rejeição nos primeiros 20 dias e após, estão associados de maneira significativa com o desenvolvimento de VBDS, ao contrário de outros grupos em que a rejeição precoce é considerada mais grave (KLINTMALM et al., 1989; SAMUEL et al., 1990; FREESE et al., 1991). Por outro lado, alguns autores referem (MOR et al, 1992) que a ocorrência tardia de rejeição aguda é mais resistente ao tratamento com corticóides e progride mais freqüentemente para rejeição crônica e perda do enxerto. Em relação a frequência, esta afirmação foi confirmada em nosso estudo, onde 9 de 51 pacientes (17,6%) com rejeição aguda tardia desenvolveram VBDS enquanto apenas 15 de 137 (10,9%) doentes com rejeição precoce tiveram evolução semelhante. A incidência relativamente baixa de rejeição aguda tardia observada nesta série (13,9%), confirma

os achados prévios do Serviço e a experiência de outros Centros (KLINTMALM et al., 1989; SAMUEL et al., 1990; MOR et al., 1992).

Ainda em relação ao primeiro episódio de rejeição aguda, observamos que aqueles pacientes sem recidiva da rejeição apresentam uma incidência menor do que a esperada de desenvolver rejeição crônica. O dado mais interessante, entretanto, é que a recidiva tardia, ou seja, três meses após a primeira rejeição, estava associada de maneira significativa com o desenvolvimento de VBDS. Já DOUSSET et al. (1993) relatam uma associação significativa entre recidiva a qualquer momento (precoce ou tardia) e VBDS. MOR et al. (1992) observaram que o abandono ao tratamento é a maior causa de rejeição ou recidiva tardia, sendo responsável por 34,6% de todos os episódios. Estes autores documentaram o abandono ao tratamento pelo confronto direto entre pacientes e familiares sobre este assunto. Este tipo de situação é mais frequentemente observada em pacientes jovens, de um grupo sócio-econômico mais baixo, mas é muito difícil de empreender esta análise e de identificar estes doentes. No nosso grupo, nos preocupamos apenas em identificar ou não a adesão ao tratamento em pacientes que desenvolveram rejeição crônica, por isso a análise dos indivíduos que apresentaram rejeição aguda tardia ou recidiva tardia da rejeição pode estar prejudicado. É interessante salientar que este índice de abandono ao tratamento deve ser ainda maior porque alguns pacientes não admitem, e outros retomam o tratamento apenas nos períodos próximos à admissão hospitalar ou controle ambulatorial.

Um outro aspecto importante diz respeito aos episódios de rejeição meramente histológica, ou seja, assintomáticos que ocorrem no pós-operatório do transplante hepático. Este estudo confirma que os sinais histológicos de rejeição, não associados com o aumento das provas de função hepática, não necessitam um

tratamento específico e são associados com uma evolução particularmente favorável a longo prazo. Dos 154 pacientes com rejeição assintomática, apenas um desenvolveu VBDS no período pós-operatório, que corresponde a 3,7% de todos os indivíduos que desenvolveram esta síndrome. FARGES et al. (1995) acreditam que os pacientes com sinais meramente histológicos de rejeição em biópsias hepáticas de rotina apresentam menos episódios subseqüentes de rejeição aguda clínica, uma incidência mais baixa de rejeição crônica e uma melhor sobrevida do paciente e enxerto quando comparados com indivíduos que apresentaram episódios precoces de rejeição clínica. Estes dados sugerem, como em modelos experimentais (FARGES et al., 1994b), que a evolução imunológica a longo prazo dos enxertos hepáticos humanos é, ao menos em parte, relacionada às características da resposta imune que ocorre durante o período pós-operatório imediato. Parece claro, portanto, que os sinais histológicos de rejeição não associados com disfunção bioquímica carecem de tratamento adicional específico. Além disso, estas características histológicas tendem a resolver espontaneamente em poucos dias, tornando a conduta de não tratá-los sem associação com progressão para rejeição crônica. Acreditamos que o tratamento anti-rejeição nesta situação pode ser perigoso por interferir com esta resposta imune "favorável". PIRSCH et al. (1990), referem que a implementação desta política tem sido associada, em sua Unidade, com a diminuição da incidência de rejeição crônica. Como os pacientes após TH estão em geral "super" imunossuprimidos e não "sub" imunossuprimidos, existe a necessidade de definir o regime imunossupressor ideal para cada paciente, de acordo com o risco de desenvolvimento de rejeição crônica. Este estudo sugere que pacientes com rejeição assintomática representam um grupo de pacientes em que o nível de imunossupressão poderia ser reduzido.

Os mecanismos imunológicos envolvidos na rejeição aguda de um enxerto alogênico incluem ativação de células específicas, a sua invasão dentro do enxerto, secreção local de linfocinas, as interações entre diferentes populações de células T, e finalmente, a maturação de células específicas que destroem o órgão. Nos enxertos hepáticos, os hepatócitos, o epitélio biliar e as células endoteliais vasculares são os alvos principais do ataque imune. Portanto, um aumento das transaminases e elevação das bilirrubinas são resultados clínicos de uma rejeição aguda. Entretanto, devido a diferenças genéticas, ao tipo de imunossupressão administrada e outros fatores desconhecidos, a resposta imune pode ser completamente variável ou ainda ser modificada ou bloqueada em determinados estágios, impedindo a destruição das células alvo e assim não ocorrendo sinais clínicos de rejeição. Além disso, a rejeição clínica parece representar somente uma consequência extrema da resposta alogênica que pode ocorrer após um transplante de órgão "in vivo". Na realidade, o alto índice de rejeição assintomática nos achados de biópsia de pacientes com enxerto hepático demonstra que, particularmente em certas condições de imunossupressão, as formas incompletas ou subclínicas de resposta podem ser mais frequentes. A imunossupressão básica tem uma influência importante na incidência de rejeição clínica e assintomática. A utilização de diferentes regimes imunossupressores influencia de maneira diferente os índices de rejeição clínica e assintomática (SCHLITT et al., 1992). É sabido que com a introdução precoce da ciclosporina, a taxa de rejeição clínica é baixa, mas também a dose de ciclosporina tem um efeito marcadamente diferente na incidência de rejeição morfológica, e portanto é de relevância biológica a presença de infiltrado no enxerto. Altas doses de ciclosporina obviamente inibem a ativação do processo imune "in vivo" em estágio muito precoce, levando a um baixo número de rejeições clínicas e uma pequena incidência de ativação imune dentro do enxerto. Nós não observamos nenhuma associação entre os títulos de imunoprofilaxia básica e o desenvolvimento de

rejeição crônica nesta série de doentes. É de ressaltar, entretanto, que a grande maioria destes pacientes (73,8%) fazia uso de ciclosporina como imunoprofilaxia básica.

Em relação aos episódios de rejeição aguda tratadas e a sua sensibilidade ao tratamento, observamos uma tendência daqueles indivíduos resistentes ao tratamento com corticóides de desenvolver VBDS. Por outro lado, foi observada uma associação significativa entre a resistência ao tratamento por OKT3 e o desenvolvimento de rejeição crônica. Do grupo estudado, 40 pacientes eram resistentes ao corticóide e necessitaram uso de OKT3.

Os nossos achados são semelhantes aos de DOUSSET et al. (1993), que observaram uma incidência de 6,7% de pacientes que não responderam ao tratamento com altas doses de corticóides e foram subseqüentemente tratados com OKT3. Também em relação à resistência terapêutica aos corticóides, os dados são semelhantes. O mais interessante no estudo de DOUSSET et al. (1993) é que em 7 dos 8 pacientes apresentados houve regressão do episódio de rejeição aguda sem a necessidade de imunossupressão adicional. Como referido anteriormente, diversos Centros informaram regressão de rejeição assintomática (WILLIAMS et al., 1985; SNOVER et al., 1987; ADAMS & NEUBERGER, 1990; HUBSCHER, 1991), mas esta é a primeira descrição, bem documentada, de regressão espontânea de rejeição clínica.

A análise isolada das lesões histológicas do primeiro episódio de rejeição aguda desta série, demonstrou associação apenas entre lesão biliar tipo 3 e VBDS e tipo 2 e rejeição crônica vascular. Em relação a lesão endotelial, notamos que a VBDS está associada com lesão tipo 2. Nenhuma outra associação pode ser

identificada. Estes resultados sugerem que pacientes com estas características necessitam um nível maior de imunossupressão e um acompanhamento mais próximo. Quando analisamos a gravidade das lesões em conjunto, apenas as lesões graves estavam associadas de maneira significativa com VBDS e rejeição crônica vascular. Ainda que sem significância neste grupo de doentes, parece lícito concordar com REYNES (1992), que sugere a partir de uma rejeição moderada ao exame anátomo-patológico tratar-se de uma forte indicação a tratamento imunossupressor complementar, caso os sinais clínicos e bioquímicos sejam igualmente marcantes.

Como atualmente 85% dos indivíduos transplantados estão vivos no período de um ano (BISMUTH et al., 1992), o aumento deste índice está relacionado a progressos importantes no conhecimento dos acontecimentos após o transplante. Existem inúmeras incertezas no campo da análise morfológica das lesões do enxerto. Uma melhor avaliação da qualidade do enxerto, especialmente no que concerne ao endotélio e à parede sinusoidal, poderá diminuir o risco de disfunção primária deste. Ainda mais importante é o fato de que ainda não possuímos, apesar das tentativas de avaliação de populações celulares e de sua ativação, um ou vários elementos anátomo-patológicos preditivos da gravidade da rejeição aguda. Neste sentido, em especial em relação à lesão biliar, nosso estudo fornece alguma contribuição. Entretanto, o progresso nesta área deve estar ligado à compreensão desta diferente patologia arterial ligada à rejeição, que, além de tudo, não é própria do fígado.

Um achado interessante nesta série foi observado em relação à indicação de TH. Houve uma associação significativa dos indivíduos transplantados por insuficiência hepática aguda e o desenvolvimento após o TH de VBDS ($p=0,009$; $OR=2,7$). Além disso, a análise desta variável permitiu observar uma proteção à

ocorrência de VBDS em pacientes submetidos a TH por cirrose pós-hepatite ($p=0,02$; $OR=0,33$), o que confirma estudos prévios (FARGES et al., 1994a). Nós não observamos qualquer associação entre outros tipos de cirrose, em especial cirrose biliar secundária e rejeição crônica, ao contrário de outros trabalhos (DEMETRIS et al., 1988; STRASSER et al., 1993). Da mesma forma, associação com CSP não foi observada.

A relação entre infecção por CMV e rejeição tem sido motivo de vários estudos. Apesar de não existirem dúvidas sobre a existência de uma relação entre estas entidades, não existe consenso sobre a seqüência exata destes eventos (GORENSEK et al., 1990).

O nosso estudo não demonstrou qualquer associação entre a sorologia para CMV e desenvolvimento de rejeição crônica. Além disso, nós observamos que a combinação doador/receptor negativos, situação em que a transmissão e infecção por CMV é extremamente rara, apresentou incidência semelhante à combinação doador positivo/receptor negativo quanto à evolução para rejeição crônica.

Por outro lado, o estudo desta série forneceu uma nova informação para a conflitante área da infecção por CMV e sua relação com rejeição crônica. Em um estudo retrospectivo de transplantes cardíacos, GRATTAN et al. (1989), observaram que a infecção por CMV estava associada com uma maior incidência de rejeição aguda e alterações arteroscleróticas, consideradas como uma forma de rejeição crônica. Este foi o primeiro trabalho que documentou claramente a potencial associação entre infecção por CMV e rejeição em transplante de órgão sólido. No grupo de pacientes por nós estudado, existe uma associação entre a infecção por CMV sintomática e VBDS (34,8% de todos os doentes com VBDS). Já a associação

entre infecção assintomática e VBDS ocorreu em apenas 4,3% dos doentes com rejeição ductopênica, sugerindo, paradoxalmente, uma certa proteção ao desenvolvimento de VBDS, ainda que sem significância estatística. Estes dados são concordantes com os de vários autores que observaram esta associação (O'GRADY et al., 1988), embora trabalhos recentes não confirmaram estes achados (FREESE et al., 1991; PAYA et al., 1992). Estas diferenças poderiam ser explicadas pelas metodologias destes estudos. Em muitos, como no presente, a infecção por CMV era diagnosticada primariamente por métodos sorológicos. Já em outros, amostras de sangue, urina e fígado para cultura são obtidas quando a infecção é suspeita clinicamente (PAYA et al., 1992). Um dado importante é que o diagnóstico sorológico de infecção por CMV é de menor valor quando comparado com exames culturais e histológicos, porque muitos pacientes com cultura positiva para CMV não apresentam evidência de conversão sorológica (PAYA et al., 1989).

Ainda que os resultados das distintas séries sejam controversos, existem dados "in vitro" e "in vivo" evidenciando que o CMV é um imunomodulador que pode desencadear ou aumentar o processo de rejeição do enxerto. A infecção por CMV "in vitro" pode induzir a liberação de linfocinas como o interferon e o fator de necrose tumoral, que são conhecidos por aumentar a expressão das moléculas HLA na superfície celular, e isto aumentaria a lise destas células pelos linfócitos T citolíticos (SKOSKIEWICZ et al., 1985). Também é imputado ao CMV a característica de aumentar os antígenos de classe I "in vitro", pela produção de interferon nas células não infectadas enquanto diminui a sua expressão na superfície das células infectadas (GRUNDY & SHEARER, 1984; GRUNDY et al., 1988; BROWNE et al., 1990).

Um outro aspecto importante diz respeito ao uso de tratamento antiviral. Em todos os pacientes transplantados desta série, realizou-se profilaxia viral, e aqueles com infecção por CMV eram tratados com ganciclovir, o que diminuiu significativamente os títulos sorológicos de CMV (PAYA et al., 1988). Observamos uma diferença importante de associação entre VBDS e infecção sintomática ou não.

O papel do processo imune no início e desenvolvimento das lesões de rejeição crônica ainda não é bem conhecido (PEARCE et al., 1975; CERILLI et al., 1987; FEEHALY et al., 1986), especialmente no transplante de fígado, onde mesmo que não se realize prova cruzada prévia, o índice de rejeição crônica é relativamente baixo (OGUMA et al., 1989). Nós não observamos nenhuma associação com rejeição crônica ao analisar as diferentes combinações do HLA entre doadores e receptores, achados semelhantes aos de FREESE et al. (1991) e PAYA et al. (1992). Resultados contraditórios foram observados por DONALDSON et al. (1987) e BATTIS et al. (1988), o primeiro observando associação com rejeição crônica para os antígenos de classe I e o segundo notando esta associação com antígenos de classe II.

Na presente série, o cruzamento HLA foi semelhante para os antígenos de classe I e II, mas vale ressaltar que foram estudados apenas o HLA-A, HLA-B e HLA-DR. Autores como MANEZ et al. (1993), referem que o cruzamento HLA-DR está associado com o início precoce de rejeição crônica, mas não com a frequência aumentada. Além disso, estes autores demonstraram que o cruzamento HLA-DR reduz a ocorrência de rejeição aguda celular aumentando o risco de hepatite por CMV.

Enquanto a terapia convencional tem o objetivo de inibir a rejeição pós-operatória, outros esforços têm sido dirigidos para diminuir ou prevenir a resposta

imune antes do transplante. Ainda que o cruzamento HLA pré-operatório entre doador e receptor não tenha um papel definido, alguns autores acreditam que possa exercer um papel importante na sobrevida do enxerto, especialmente para o HLA-DR, e a importância de outra posição envolvida continua a ser pesquisada (CICCIARELLI et al., 1987; MORRIS, 1989). A reação em cadeia de polimerase (PCR), permitindo uma tipagem HLA mais rápida e a seqüência de DNA, é um instrumento importante no apoio destes estudos.

O início da resposta do hospedeiro pode ser, em parte, devido a passagem de leucócitos HLA classe II para dentro do enxerto. A remoção destes leucócitos por uma variedade de técnicas antes da cirurgia têm demonstrado aumento na sobrevida dos enxertos em vários modelos experimentais (FAUSTMAN et al., 1984; TAUBE et al., 1987; IWAI et al., 1989; BREWER et al., 1989; LARSEN et al., 1990). Muitos estudos têm sido direcionados na indução de tolerância específica ao antígeno do enxerto. Mesmo que o mecanismo de tolerância permaneça desconhecido, a formação de células supressoras específicas do hospedeiro pela exposição de antígenos selecionados antes da cirurgia pode ajudar na supressão da resposta do hospedeiro ao enxerto (MADSEN et al., 1988). Técnicas de transferência de genes foram utilizadas em um modelo experimental de transplante cardíaco, para transferir genes de classe I ou II do complexo maior de histocompatibilidade do doador para o receptor antes da cirurgia. Este estudo demonstrou que a utilização deste pré-tratamento prolonga a sobrevida do enxerto e foi mais efetivo que as transfusões pré-operatórias de sangue total (MADSEN et al., 1988). O melhor conhecimento das estruturas moleculares e dos eventos envolvidos neste processo serão úteis para modificar a resposta do hospedeiro contra a rejeição, permitindo a aceitação do enxerto.

5.2. Resultados com Enxertos Incompatíveis

Ao contrário dos transplantes de rim e coração, os enxertos de fígado incompatíveis continuam a ser utilizados em situações de emergência, quando um enxerto compatível não é disponível e a condição médica do paciente deteriora rapidamente. Dados provenientes do Registro Norte Americano de Transplante Hepático indicam que esta situação ocorre em 6,9% e 2,4% de todos os transplantes pediátricos e adultos respectivamente (BELLE et al., 1992). Na Europa, 8% dos transplantes hepáticos de emergência são realizados com enxerto em incompatibilidade ABO (European Liver Transplant Registry, 1993). Estas cifras são menores que a experiência do Centro de Villejuif, onde 19,2% dos transplantes de emergência foram realizados com enxerto ABO incompatível. Esta diferença reflete duas situações. Primeiro a política de privilegiar a urgência do transplante nestas circunstâncias (BISMUTH et al., 1987) e a segunda é a expressão do pequeno número de doadores na França. A questão de realizar ou não, e quando é justificado usar estes enxertos incompatíveis é importante de ser esclarecida devido a diminuição de doadores em todo o mundo e o recente consenso de que o transplante hepático é o melhor tratamento disponível da insuficiência hepática fulminante (OKADA et al., 1988).

A sobrevida global dos pacientes após transplante hepático ABO incompatível foi de 52% ao ano e 50% a 5 anos. Estes dados mostram, como na experiência de outros (BELLE et al., 1992), níveis de sobrevida significativamente mais baixos do que aqueles observados em um mesmo Centro, durante o mesmo período de tempo, para os transplantes ABO compatíveis (80,5% e 72,7% respectivamente), mas esta diferença parece estar diretamente relacionada com a urgência médica e ou a doença primária que levou ao transplante. Além disso, a

sobrevida dos receptores de enxertos ABO incompatíveis não é significativamente diferente de uma outra população de receptores de enxertos compatíveis ou idênticos quando estes são pareados por indicação e urgência médica.

Usando o mesmo grupo representativo de pacientes com insuficiência hepática fulminante ou subfulminante, ficou evidenciado neste estudo que a incompatibilidade tem, per se, um impacto negativo significativo na sobrevida do enxerto. A baixa sobrevida dos enxertos ABO incompatíveis observado no presente estudo (30% a 1 ano, 20% a 5 anos) é similar àquela relatada pelo Registro Norte Americano (49% a 1 ano, 39% a 3 anos) ou do Registro Europeu de Transplante Hepático (30% a 1 ano, 23% a 5 anos), e foi consequência de rejeição hiperaguda, lesão de ducto biliar e trombose vascular.

Atualmente é bem aceito (KNECHTLE et al., 1987; DEMETRIS et al., 1988; GUGENHEIM et al., 1990), ao contrário dos relatos experimentais e clínicos iniciais (KAMADA et al., 1981), que a rejeição hiperaguda dos enxertos de fígado pode realmente ocorrer. Esta complicação, entretanto, parece ter manifestação distinta daquelas observadas após transplante de coração ou rim, incluindo sua baixa incidência (20% no presente estudo) e a frequência com que ocorre tardiamente (mais de 10 dias após o transplante), e ainda que uma deposição precoce de anticorpos específicos de grupo sanguíneo do doador no enxerto sejam observados rapidamente após a revascularização. Esta resistência relativa a rejeição humoral (WOOD & FARGES, 1993) é também apoiada por nossa observação de que a rejeição hiperaguda pode resolver espontaneamente e não necessariamente recorre se o paciente é retransplantado com outro enxerto ABO incompatível. Uma vez que a rejeição hiperaguda se desenvolve, geralmente resulta em insuficiência hepática irreversível dentro de horas e obriga a um retransplante de emergência. O risco

associado com estes retransplantes por rejeição hiperaguda é, na nossa experiência, comparável àqueles transplantes de emergência ou retransplantes por outras indicações, com uma mortalidade de 50%.

O segundo aspecto específico do transplante ABO incompatível é a incidência aumentada de complicações biliares ou vasculares (GUGENHEIM et al., 1990; SÁNCHEZ-URDAZPAL et al., 1993). Estas ocorreram no presente estudo em 56% dos pacientes que sobreviveram o período pós-operatório imediato, e eram provavelmente relacionadas a resposta humoral dirigida contra os antígenos de grupo sanguíneo que eram expressos pelo epitélio biliar dos grandes ductos biliares (OKADA et al., 1988; NAKANUMA & SASAKI, 1989). Na nossa experiência e de outros (SÁNCHEZ-URDAZPAL et al., 1993), estas lesões não mostram tendência a resolução e geralmente levam a complicações biliares sépticas. As tentativas de reparo cirúrgico biliar ou vascular são fadadas ao fracasso, e a única opção curativa é o retransplante, que idealmente deve ser realizado antes que estas complicações se desenvolvam. É interessante ressaltar, que o retransplante por esta indicação está associado em nossa experiência com uma evolução particularmente favorável de pacientes e enxertos.

As lesões biliares difusas têm sido minuciosamente descritas após transplante hepático ortotópico, e são ditas como lesões tipo colangite esclerosante (SEBAGH et al., 1995). A gênese destas lesões após TH permanece obscura. A hipótese de que sejam de natureza isquêmica é bastante plausível, tendo semelhança colangiográfica com as estenoses causadas por infusão intra-arterial hepática de fluridina (LUDWIG et al., 1989). Assim, estas lesões tem sido descritas como "colangite isquêmica" (LUDWIG et al., 1992) ou "complicações biliares do tipo isquêmica" (SANCHEZ-URDAZPAL et al., 1992). Outros fatores menos estabelecidos incluem a recorrência

da doença biliar benigna primária, fatores imunológicos e colangite infecciosa. Esta última foi recentemente descrita em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida, e tanto o CMV como o criptosporídio foram encontrados na bile, vesícula e na mucosa ductal (SCHNEIDERMAN et al., 1987). Estes patógenos parecem induzir uma resposta inflamatória resultando em edema, espasmos e fibrose. Também tem sido observado (LERUT et al., 1988; SEBAGH et al., 1995) uma história natural muito semelhante entre rejeição crônica e este tipo de colangite esclerosante. A maioria dos casos ocorreu dentro do primeiro ano após o transplante e estes pacientes experimentaram rejeição aguda em seu curso clínico inicial. Além disso, a maioria dos casos progrediu para insuficiência hepática, necessitando retransplante. A colangite esclerosante e rejeição crônica têm algumas características histológicas comuns. Apesar da primeira ser uma afecção que afeta geralmente ductos de calibre médio ou grande, existe uma variante em que pequenos ductos biliares são também comprometidos resultando em rarefação de ductos biliares. Esta diminuição coloca a colangite esclerosante num grupo de doenças que pode resultar em VBDS. Por outro lado, a VBDS é caracterizada por perda de ductos de pequeno e médio calibre. Entretanto, existe uma variante em que lesão de grandes ductos biliares, possivelmente pela isquemia crônica da arteriopatia obliterativa, não é incomum (DEMETRIS et al., 1987). Isto significa que na presença de ductopenia a distinção entre colangite esclerosante e rejeição crônica pode ser difícil. Isto é ainda mais importante porque estas situações podem ocorrer em associação. O achado de lesões histológicas sugestivas de obstrução de grandes ductos biliares está associado a colangite esclerosante, enquanto a arteriopatia em células espumosas, apesar de não ser considerado um fator obrigatório, sugere o diagnóstico de rejeição crônica ductopênica. Portanto, a análise da área perivenular que reflete lesões arteriais indiretas deve ser estudada de maneira exaustiva quando apenas espécimes de biópsias são disponíveis para estudo. Além de tudo, estas duas entidades

apresentam patogênese não elucidada, e os fatores envolvidos como isquemia, fatores imunológicos, papel da infecção por CMV, podem ser os mesmos.

O uso de globulina anti-timocítica associada ou não a esplenectomia, assim como a plasmaferese têm sido advogadas com o objetivo de aumentar a sobrevida em receptores de enxerto ABO incompatível. Utilizando esta conduta, FISCHER et al. (1989) relataram uma sobrevida do enxerto a um ano de 75% em oito receptores. RENARD e ANDREWS (1992) observaram 60% de sobrevida do enxerto em 7 receptores. Estes dois estudos, entretanto, incluíam receptores pediátricos, cuja resposta humoral é menor do que aquela dos adultos e não havia um grupo controle. Desta forma, é muito difícil julgar o benefício destes protocolos e se estas indicações deveriam ser estendidas aos receptores adultos.

Apesar dos pacientes do presente estudo não terem sido randomizados quanto aos diferentes regimes imunoproláticos utilizados, nossos dados sugerem que a imunoprolaxia baseada na administração de ciclosporina e GAT, somando-se aos esteróides e a azatioprina, está realmente associada com uma incidência reduzida de rejeição aguda. A adição de GAT não parece reduzir o risco de rejeição hiperaguda, que é principalmente relacionado a introdução tardia da ciclosporina ou GAT, nem o risco de complicações biliares ou vasculares, entretanto, o benefício da associação de ciclosporina e GAT na rejeição aguda deve ser balanceado com a maior incidência de complicações sépticas.

A razão fundamental para remover anticorpos anti grupo sanguíneo do doador em receptores de um enxerto hepático ABO incompatível é baseado nas observações de que existe uma deposição destes anticorpos dentro dos enxertos que experimentam um episódio de rejeição hiperaguda (DEMETRIS et al., 1988;

GUGENHEIM et al., 1990), e da escassez de rejeição humoral mediada nos transplantes hepáticos de crianças que possuem poucos anticorpos pré formados no momento do transplante (YANDZA et al., 1994), ou em receptores renais adultos em incompatibilidade ABO HLA cruzados que foram submetidos a plasmaferese no pré-operatório (LATINNE et al., 1989). Atualmente, pouca informação é disponível em relação ao valor prognóstico dos títulos séricos deste anticorpos. De fato, nossos resultados sugerem que os títulos de anticorpos séricos são, per se, preditores pouco acurados da evolução do enxerto, assim como a presença destes anticorpos no soro não é necessariamente paralela com sua presença dentro do enxerto. Além disso, um aumento nos títulos de anticorpos específicos do doador no soro é fracamente associado com uma piora paralela nas provas de função hepática (BERNUAU et al., 1986), e um aumento dos títulos de anticorpos não específicos do doador não esta sempre associado com um aumento similar dos títulos de anticorpos específicos do doador. Some-se a isso, que as trombooses vasculares ou as lesões difusas dos ductos biliares intra-hepáticos podem se desenvolver mesmo na presença de títulos de anticorpos séricos baixos no período pós-operatório imediato. Estas observações demonstram uma dificuldade de definir o título limiar para a realização de plasmaferese.

No presente estudo, a plasmaferese foi realizada após o transplante por que a emergência da situação, assim como as condições hemodinâmicas e hemostáticas dos pacientes, proibiam o seu uso no pré-operatório. A plasmaferese, neste cenário, foi altamente efetiva em reduzir os títulos de anticorpos anti A B em contraste com a experiência de RENARD e ANDREWS (1992), que relataram em 65% dos tratamentos nenhuma alteração ou mesmo aumento dos títulos A B. Esta diferença pode ser relacionada ao fato dos títulos séricos dos nossos pacientes no momento da plasmaferese serem maiores do que aqueles do grupo de RENARD e ANDREWS

(1992), cuja política era manter um título sérico abaixo de 1/8. Estas observações reforçam os limites da plasmaferese quando realizada após o transplante e sugerem que ela pode ter apenas um impacto limitado ou transitório na evolução. Além disso, os títulos de anticorpos A/B que geralmente apresentam um pico entre o 6º e 13º dia pós-operatório, após este período tendem a diminuir espontaneamente. Estudos posteriores são claramente necessários com o objetivo de esclarecer o uso da plasmaferese em pacientes adultos. Para definir estes estudos será também muito importante levar em conta a dificuldade de remover os anticorpos antes do transplante em pacientes com insuficiência hepática fulminante ou subfulminante e as complicações sépticas que podem advir das plasmafereses repetidas. Em relação a isso, a descrição recente do uso de antígenos solúveis como uma alternativa a plasmaferese parece ser alentadora (COOPER et al., 1993).

Apesar do alto índice de perda de enxerto, nós não acreditamos que os receptores de enxerto ABO incompatíveis devam ser submetidos de maneira sistemática a retransplante, baseado nas seguintes considerações:

1 - o retransplante sistemático deveria ser realizado o mais precoce possível desde que um enxerto de um grupo compatível fosse encontrado, isto é, antes que um episódio de rejeição hiperaguda pudesse desenvolver; apesar destes transplantes precoces serem tecnicamente fáceis, eles são associados com altos índices de morbidade e mortalidade, especialmente decorrente de complicações sépticas; soma-se a isso o fato de que como a recuperação da encefalopatia e edema cerebral é freqüentemente retardada em pacientes transplantados por insuficiência hepática fulminante ou subfulminante, eles podem ainda estar comatosos no momento deste retransplante;

2 - o retransplante tardio, indicado por complicações biliares ou vasculares, tem em nossa experiência uma evolução particularmente favorável, desde que realizado antes que as complicações sépticas se desenvolvam. Existe, portanto, poucas evidências de que um retransplante sistemático seria de valor para aumentar a sobrevida dos pacientes. Em adição, alguns receptores (25% no presente estudo) podem sobreviver por um longo período com o seu enxerto original em incompatibilidade ABO.

Este estudo demonstra que o uso de enxertos ABO incompatíveis, para tratar insuficiência hepática fulminante ou subfulminante, é um procedimento salvador de vidas, proporcionando a utilização de um maior número de enxertos por pacientes. Alguns autores poderiam argumentar que esses enxertos seriam mais eficientemente utilizados se eles tivessem sido transplantados em pacientes compatíveis. Ao responder a este controverso assunto, nós teríamos entretanto que levar em consideração vários pontos. O primeiro é que uma vez que o transplante está indicado em pacientes com insuficiência hepática fulminante, o intervalo até que um enxerto compatível esteja disponível é desconhecido e qualquer demora antes do transplante ser realizado está associado com um risco elevado de morte por edema cerebral (16% na experiência). A política destes autores certamente aumenta a sobrevida dos enxertos transplantados, mas em detrimento da sobrevida dos pacientes com a doença para qual o transplante está indicado. O segundo ponto é que os pacientes eletivos compatíveis que deveriam ser os mais beneficiados por estes enxertos "perdidos" são aqueles com maior mortalidade enquanto aguardam na lista de espera (EDWARDS et al., 1992), ou seja, encontram-se em estado clínico extremamente deteriorado. Além disso, pelo fato de estarem nos piores estados da classificação do Registro Norte-Americano, não tem uma evolução particularmente favorável após o transplante (50% de sobrevida sem retransplante a um ano). Desta

forma, nós acreditamos que existem razões suficientes para se utilizar enxertos incompatíveis em situações de emergência, mas que a disponibilidade de órgãos compatíveis deve ser incrementada, e que as pesquisas no futuro devam estar mais focalizadas no desenvolvimento de meios mais eficientes de controlar a resposta humoral ou alternativamente de desenvolver suportes artificiais hepáticos que possam permitir com segurança aguardar o transplante.

6. CONCLUSÕES

6.1. Em relação ao desenvolvimento de rejeição crônica, os nossos dados permitem concluir que:

A) Existe uma associação maior que a esperada de rejeição crônica tipo VBDS com as seguintes variáveis: TH por insuficiência hepática aguda ($p = 0,009$; $OR = 2,7$); rejeição clínica até o 20º dia do TH ($p = 0,03$; $OR = 2,3$); rejeição clínica após o 20º dia do TH ($p = 0,001$; $OR = 3,7$); recidiva tardia de rejeição aguda, após 3 meses ($p = 0,01$; $OR = 4,6$); resistência ao tratamento com corticóides no 1º episódio de rejeição aguda ($p = 0,05$; $OR = 2,5$) e ao OKT3 ($p = 0,00007$; $OR = 10,8$); infecção por CMV sintomática ($p = 0,01$; $OR = 3,1$).

B) Uma associação menor que a esperada de VBDS foi observada com as variáveis: TH por cirrose pós-hepatite ($p = 0,02$; $OR = 0,3$); sensibilidade ao tratamento com corticóide no 1º episódio de rejeição aguda ($p = 0,05$; $OR = 0,4$); ausência de recidiva de rejeição aguda ($p = 0,003$; $OR = 0,1$); rejeição assintomática ($p = 0,00002$; $OR = 0,04$).

C) Quanto a rejeição crônica vascular observou-se que: há uma associação menor que a esperada com as variáveis rejeição assintomática ($p = 0,03$; $OR = 0,2$); sensibilidade ao tratamento com corticóides no 1º episódio de rejeição aguda ($p = 0,03$; $OR = 0,2$) e ausência de recidiva de rejeição aguda ($p = 0,002$; $OR = 0,07$). Uma associação maior que a esperada ocorreu com a resistência ao tratamento com OKT3 ($p = 0,0007$; $OR = 20,0$).

6.2. A análise dos resultados do TH com enxertos incompatíveis leva-nos a concluir que:

A) A sobrevida dos pacientes , quando pareados por indicação e urgência médica, neste grupo é menor que nos TH compatíveis, mas sem significância estatística. Já a sobrevida dos enxertos é bem menor ($p = 0,0002$) quando comparada aos enxertos idênticos ou compatíveis.

B) A incidência de rejeição hiperaguda é extremamente alta (20% com biópsia), assim como o desenvolvimento de complicações biliares ou vasculares (56%) neste grupo.

C) A adição de SAL ao regime imunoprolático está associado com redução de incidência de rejeição ($p = 0,04$) e aumento das complicações sépticas. A introdução retardada de SAL ($RR = 8,5$; $p = 0,013$) ou ciclosporina ($RR = 6$; $p = 0,037$) está associada com aumento de incidência de rejeição hiperaguda.

D) O retransplante tardio, por complicações biliares ou vasculares, demonstrou evolução favorável, pois os pacientes assim tratados nesta série estão vivos e bem, com acompanhamento entre 1 e 5 anos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. Referências Bibliográficas

ADAMS DH, HUBSCHER SG, NEUBERGER JM. Reduced incidence of rejection in patients undergoing liver transplantation for chronic hepatitis B. *Transplant Proc* 1991; 23: 1436-1437.

ADAMS DH, NEUBERGER JM. Patterns of graft rejection following liver transplantation. *J Hepatol*, 1990; 10: 113-119.

ALEXANDRE GPJ, SQUIFFLET JP, DE BRUYERE M. Present experiences in a series of 26 ABO-incompatible living donor allografts. *Transplant Proc* 1987; 19: 4538.

ARNOLD JC, PORTMAN BC, O'GRADY JG. Cytomegalovirus infection persists in the liver graft in the vanishing bile duct syndrome. *Hepatology* 1992; 16: 285-292.

ASCHER N, STOCK PG, BUMBARDNER GL, PAYNE WD, NAJARIAN JS. Infection and rejection of primary hepatic transplantation in 93 consecutive patients treated with triple immunosuppressive therapy. *Surg Gynaecol Obstet*, 1988; 167: 474-484.

AYRES R, ADAMS D. Acute rejection of human liver allografts. In: J.M. Neuberger, D. Adams (ed): *Immunology of Liver Transplantation*. Edward Arnold Ed., Londres 1993, p. 197-215

- BACKMAN L, GIBBS J, LEVY M, et al. Causes of late graft loss after liver transplantation. *Transplantation* 1993; 55(5): 1078-82.
- BACKMAN L, NICAR M, LEVY M et al. FK 506 trough levels in whole blood and plasma in liver transplant recipients. Correlation with clinical events and side effects. *Transplantation*, 1994; 57(4); 519-525.
- BARKAOLT LM, ERICZON BG, ERNST A. Cytomegalovirus infection in liver transplant patients: Incidence and outcome. *Transplant Proc* 1990; 22: 235-237.
- BATTS KP, MOORE SB, PERKINS JD, WIESNER RH, GRAMBSCH PM, KROM RAF. Influence of positive lymphocyte crossmatch and HLA mismatching on vanishing bile duct syndrome in human liver allografts. *Transplantation* 1988; 45: 376-379.
- BELLE SH, BERINGER KC, MURPHY JB, DETRE KM. The Pitt-Unos liver transplant registry. In: Terasaki PI and Cecka JM, eds. *Clinical Transplants 1992*, UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, CA 1992, 17-32.
- BELZER FO, SOUTHARD JH. Principles of solid organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988, 45: 673-6.
- BERK PD, GOLDBERG JD. Plus ça change, plus c'est la même chose. *Gastroenterology*, 1988; 94: 1228-1230.

- BERNUAU J., GOUDEAU A, POYNARD T et al. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology*, 1986, 6: 648-651.
- BISMUTH H, CASTAING D, ERICSON BG, OTTE JB, ROLLES K, RINGE B. Hepatic transplantation in Europe. First report of the european liver transplant registry. *Lancet*, 1987; 2: 674-676.
- BISMUTH H, FARGES O, SAMUEL D, CASTAING D. Past, present and future in liver transplantation. *Transplant Proc* 1992; 24 (suppl 2): 85-87.
- BISMUTH H, SAMUEL D, GUGENHEIM J, CASTAING D, BERNEAU J. Emergency liver transplantation for fulminant hepatitis. *Ann Intern Med*, 1987; 7: 337-341.
- BISMUTH H, SAMUEL D. Signes et traitement du rejet en transplantation hépatique. Editions Techniques. *Encycl. Med Chir (Paris-France)*, 1993, 6.
- BLANKENSTEIJN JD, SCHALM SW, TERPSTRA OT. New aspects of heterotopic liver transplantation. *Transplant Intern* 1992; 5: 43-50.
- BLOOM S, FLEMING K, CHAPMAN R, NEUBERGER J, HUBSCHER S. Inappropriate expression of blood group antigens in hepatic allografts. *Hepatology*, 1994; 19(4): 876-881.
- BREWER T, TAUBE D, BEWICK M. Effect of graft perfusion with two CD45 monoclonal antibodies on incidence of kidney allograft rejection. *Lancet* 1989; 2: 935-937.

- BROWNE H, SMITH G, BECK S, MINSON T. A complex between the MHC class I homologons encoded by human CMV and B2 microglobulin. *Nature* 1990; 347: 770-772.
- BUBAK ME, PORAYKO MK, KROM RAF, WIESNER RH. Complications of liver biopsy in liver transplant patients: increased sepsis associated with choledochojejunostomy. *Hepatology*, 1992; 14: 1063-1065.
- CALNE RY, ALEXANDRE GPJ, MURRAY JE. A study of the effects of drugs in prolonging survival of homologous renal transplants in dogs. *Ann NY Acad Sci* 1962; 99: 743-761.
- CALNE RY, ROLLES K, WHITE DJ. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet* 1979; 2: 1033-1036.
- CARBONNEL F, SAMUEL D, REYNES M, BENNHAMOU JP, BISMUTH H, BACH JF, CHATENOU D L. Fine-needle aspiration biopsy of human liver allografts. *Transplantation*, 1990; 50: 704-707.
- CERILLI J, HOLLIDAY IE, FESPERMAN DP, FOLGER MR. Anti-vascular endothelial cell antibody: its role in transplantation. *Surgery* 1987; 81: 132-138.

- CHERQUI D, DUVOUX C, CHARLOTTE F, HUMERES R et al. Value of a powerful initial immunosuppression after liver transplantation. Prospective study of 60 cases. *Gastroenterol-Clin-Biol.*, 1994; 18:115-122.
- CHOU SW. Acquisition of donor strains of cytomegalovirus by renal transplant recipients. *N Engl J Med* 1986; 314: 1418-1423.
- CICCIARELLI J, TERASARI PL, MICKEY MR. The effect of zero HLA class I and II mismatching in cyclosporine-treated kidney transplant patients. *Transplantation* 1987; 43: 636-640.
- CLOUSTON AD, WALKER NI, BALDERSON GA, et al. Outcomes of rejection in adult liver transplant recipients the queensland experience. *Transplant Proc* 1993; 25(5): 2886-7.
- COLLETTI LM, JOHNSON KJ, KUNKEL RG, MERION RM. Mechanisms of hyperacute rejection in porcine liver transplantation. Antibody-mediated endothelial injury. *Transplantation*, 1994; 57(9): 1357-1363.
- CONSENSUS CONFERENCE ON INDICATIONS OF LIVER TRANSPLANTATION. Bismuth H. (ed) *Hepatology*, 1994 (suppl., p. 2); 20(1): 15-685.
- COOK D. Long term survival of kidney allografts. In Terasaki PI (ed): *Clinical Transplantation*. Los Angeles, UCLA Tissue Typing Laboratory, 1987, p. 277.

COOPER DKC, NIEKRASZ M, NOUR B, et al. Specific intravenous carbohydrate therapy. A new concept in inhibiting antibody-mediated rejection. Experience with ABO-incompatible cardiac allografting the baboon. *Transplantation*, 1993; 56: 769-777.

CORDON-CARDO C, LLOYD KO, FINSTAD CL, et al. Immunoanatomic distribution of blood group antigens in the human urinary tract. Influence of secretory status. *Lab Invest*, 1986; 55: 444-454.

COSIMI AB, CHO SI, DELMONICO FL, KAPLAN MM, ROHRER RJ, JENKINS RL. A randomized clinical trial comparing OKT3 and steroids for treatment of hepatic allograft acute rejection. *Transplantation* 1987; 43: 91-95.

DEMETRIS AJ, JAFFE R, TZAKIS A, et al. Antibody-mediated rejection of human orthopic liver allografts. A study of liver transplantation across ABO blood group barriers. *Am J Pathol*, 1988; 132: 489-502.

DEMETRIS AJ, LASKY S, VAN THIEL DH. Induction of DR/Ia antigens in human liver allografts. *Transplantation* 1985; 40: 504-509.

DEMETRIS AJ, MARRUS BH, BURNHAM J. Antibody deposition in liver allografts with chronic rejection. *Transplant Proc* 1987; 19: 121-125.

DEMETRIS AJ: The pathology of liver transplantation. In Popper H, Schaffner F: *Progress in Liver Diseases*. Philadelphia, Saunders, 1990; 9: 687-709.

- DEMETRIS JA, BELLE SH, HART J et al. Intraobserver and interobserver variation in the histological assessment of liver allograft rejection. *Hepatology*, 1991; 14: 751-755.
- DONALDSON P, UNDERHILL J, DOHERTY D, et al. Influence of human leukocyte antigen matching on liver allograft survival and rejection: "the dualistic effect". *Hepatology* 1993; 17(6): 1008-15.
- DONALDSON PT, ALEXANDER GJM, O'GRADY J. Evidence for an immune response to HLA class I antigens in the vanishing bile duct syndrome after liver transplantation. *Lancet* 1987; 1: 945-948.
- DOUSSET B, HUBSCHER SG, PADBURY RJA, GUNSON BK, BUCKELS JAC, MAYER AD, ELIAS E, MACMASTER P, NEUBERGER JM. Acute liver allograft rejection - Is treatment always necessary ? *Transplantation* 1993; 55: 529-534.
- EDWARDS EB, BREEN TJ, GUO T, ELLISON MD, DAILY OP. The UNOS waiting list: 1988 through November 30, 1992. In: TERASAKI PI and CECKA Jm, eds. *Clinical Transplants 1992*, UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, CA 1992, p. 61-75.
- EGAWA H, ESQUIVEL CO, SO SK, COX K, CONCEPCION W, LAWRENCE L. FK 506 conversion therapy in pediatric liver transplantation. *Transplantation*, 1994; 57(8): 1169-1173.

- ERNEST C., THURIN J., ATKINSON B, et al. Monoclonal antibody localization of A and B isoantigens in normal and malignant fixed human tissues. *Am J Pathol*, 1984; 117: 451-461.
- ESQUIVEL CO, JAFFE R, GORDON RD et al. Liver rejection and its differentiation from other causes of graft dysfunction. *Sem Liver Dis*, 1985; 5: 369-374.
- EUROPEAN LIVER TRANSPLANT REGISTRY, May 1968 - December 1993.
- EVERITT BS. *The analysis of contingency tables*. Chapman e Hall, London 1992; p. 1-162.
- FARGES O, KALIL AN, SALIBA F, BISMUTH H. CMV infections is not a risk factor for liver allograft rejection. *J Hepatol*, 1993a; 18: S17.
- FARGES O, KALIL AN, SALIBA F, BISMUTH H. Rejet d'allogreffe hépatique et infection à CMV. *Pathologie Biologie*, 1993b; 41: 970-2.
- FARGES O, KALIL AN, SEBAG M, SAMUEL D, REYNES M, BISMUTH H. Bile duct injury at the time of liver allograft rejection is associated with an increased risk of corticoreistance and subsequent chronic rejection. *J Hepatol*, 1993c; 18: S69.

FARGES O, KALIL AN, SEBAGH M, REYNES M, BISMUTH H. Low incidence of chronic rejection in patients experiencing histological acute rejection without simultaneous impairment in liver function tests. *Transplant Proc*, 1995; 27: 1142-1144.

FARGES O, KALIL AN, SEBAGH M, SAMUEL D, REYNES M, BISMUTH H. Reduced incidence of severe acute and chronic rejection in patients transplanted for posthepatitis cirrhosis. *J Hepatol*, 1994a; 21: S21.

FARGES O, MORRIS PJ, DALLMAN MJ. Spontaneous acceptance of liver allografts in the rat. Analysis of the immune response. *Transplantation*, 1994b; 57(2): 171-177.

FAUSTMAN DL, STEINMAN RM, GEBEL HM, HAUPTFELD V, DARIE JM, LACY PE. Prevention of rejection of murine islet allografts by pretreatment with anti-deudritic cell antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 3864-3868.

FEEHALY J, BENNET S, HARRIS KP, WALLS J. Is chronic renal transplant rejection a non-immunological phenomenon ? *Lancet* 1986; 2: 486-488.

FENNEL RH, SHIRES, VIERLING JM. Relationship of pretransplant hepatobiliary disease to bile duct damage occurring in the liver allograft. *Hepatology* 1983; 3: 84-89.

FISCHEL RJ, ASCHER NL, PAYNE WD, FREESE Dk, STOCK P, FASOLA C, NAJARIAN JS. Pediatric liver transplantation across ABO blood group barriers. *Transplantation Proc*, 1989; 21: 2221-2222.

FOX AS, TOLPIN MD, BAKER AL. Soropositivity in liver transplant recipients as a predictor of cytomegalovirus disease. *J Infect Dis* 1988; 157: 383-385.

FREESE DK, SNOVER DC, SHARP HL, GROSS CR, SAVICK SK, PAYNE WD. Chronic rejection after liver transplantation: a study of clinical, histopathological and immunological features. *Hepatology* 1991; 13: 882-891.

FUJINAMI RS, NELSON JA, WALKER L. Sequence homology and immunologic cross-reactivity of human cytomegalovirus with HLA-DR beta chain: A means for graft rejection and immunosuppression. *J Virol* 1988; 62: 100-105.

FUNG J, ABU-ELMAGD K, JAIN A. A randomized trial of primary liver transplantation under immunosuppression with FK506 vs. cyclosporine. *Transplant Proc* 1991; 23: 2977-2981.

GORDON RD, IWATZUKI S, ESQUIVEL CO, TZAKIS A, TODO S, STARZL TE. Liver transplantation across ABO blood groups. *Surgery*, 1986; 100 : 342-348.

GORENSEK MJ, CAREY WD, VOGT D. A multivariate analysis of risk factors for cytomegalovirus infection in liver transplant recipients. *Gastroenterology* 1990; 98: 1326-1332.

GOUW ASH, HOUTHOFF HJ, HUITEMA S. Expression of major histocompatibility complex antigens and replacement of donor cells by recipient ones in human liver grafts. *Transplantation* 1987; 43: 291-296.

GRATTAN MT, MORENO-CABRAL CE, STARNES VA. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allografts rejection and atherosclerosis. *JAMA* 1989; 261: 3561-3566.

GREENE CL, FEHRMANN I, TILLERY GW, HUSBERG BS, KLINTMALM GB. A clear distinction between "immune activation of rejection" and "no immune activation" in liver transplant aspiration cytology. *Transplant Proc*, 1988; 20:661.

GROND J, GOUW ASH, POPPEMA S. Chronic rejection in liver transplants: A histopathologic analysis of failed grafts and antecedent serial biopsies. *Transplant Proc* 1986; 18: 128-135.

GRUNDY JE, AYLES HM, McKEATING JA. Enhancement of class I HLA antigen expression by cytomegalovirus infection: role and amplification of the virus. *J Med Virol* 1988; 25: 483-495.

GRUNDY JE, SHEARER GM. The effect of cytomegalovirus infection on the host response to foreign and haptenmodified self histocompatibility antigens. *Transplantation* 1984; 37: 484-490.

GUBERNATIS G, KEMNITZ J, TUSCH G, PCHLMAYR R. HLA compatibility and different features of liver allograft rejection. *Transplant Int*, 1988; 1: 155-160.

GUGENHEIM J, SAMUEL D, REYNES M, BISMUTH H. Liver transplantation across ABO blood group barriers. *Lancet*, 1990; 336: 519-523.

HANTO DW, SNOVER DC, SIBLEY RK et al. Hyperacute rejection of a human orthotopic liver allograft in a presensitized recipient. *Clin Transplant*, 1987; 1: 304-310.

HAYRY P, VON WILLIBRAND E. Monitoring of organ allograft rejection by transplant aspiration cytology. *Ann Clin Res*, 1981a; 13: 264-287.

HAYRY P, VON WILLIBRAND E. Practical guidelines for line needle aspiration biopsy of human allografts. *Ann Clin Res*, 1981b; 13: 288-306.

HO M. Observation from transplantation contributing to the understanding of pathogenesis of CMV infection. *Transplant Proc* 1991; 23 (suppl): 104-109.

HOUSSIN D, GUGENHEIM J, BELLON B et al. Absence of hyperacute rejection of liver allografts in hypersensitized rats. *Transplant Proc*, 1985; 17: 293-295.

HUBSCHER SG, ADAMS DH, ELIAS E. Changes in the expression of major histocompatibility complex class II antigens in liver allograft rejection. *J Pathol* 1990; 162: 165-171.

HUBSCHER SG. Histological findings in liver allograft rejection: new insights into the pathogenesis of hepatocellular damage in liver allografts. *Histopathology*, 1991a; 18: 377-383.

HUBSCHER SG, BUCKELS JAC, ELIAS E, McMASTER P, NEUBERGER JM. Reversible vanishing bile duct syndrome after liver transplantation: report of six cases. *Transplant Proc*, 1991b; 23: 1415-1416.

HUBSCHER SG, BUCKELS JAC, ELIAS E, McMASTER P, NEUBERGER J. Vanishing bile-duct syndrome following liver transplantation - Is it reversible? *Transplantation* 1991c; 51: 1004-1010.

HUBSCHER SG, ELIAS E, BUCKELS JA, et al. Primary biliary cirrhosis. Histological evidence of disease recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 1993a; 18(2): 173-84.

HUBSCHER SG, BUCKELS JAC, ELIAS E et al. Vanishing bile duct syndrome following liver transplantation. *Transplantation* 1993b; 56, 1004-1010.

HYTIROGLOU P, LEER, SHARMA K, THEISE ND, SCHWARTZ M, MILLER C, THUNG SN. FK 506 versus cyclosporine as primary immunosuppressive agent for orthotopic liver allograft recipients. Histologic and immunopathologic observations. *Transplantation*, 1993; 56(6): 1389-1394.

- IWAI H, KUMA S-I, INABA M. Acceptance of murine thyroid allografts by pretreatment of anti-Ia antibody or anti-deudritic cell antibody in vitro. *Transplantation* 1989; 47: 45-49.
- IWAKI Y, ASHIZAWA T, COOK D. et al. ABO matching in liver transplantation. *Transplant Proc*, 1988; 20: 564-565.
- IWATSUKI S, IWAKI Y, KANO T, et al. Successful liver transplantation from crossmatch-positive donors. *Transplant Proc*, 1981; 13: 286.
- IWATZUKI S, IWAKI Y, KANO T, KOEP LJ, WEIL R, STARZL TE. Successful liver transplantation from cross-match-positive donors. *Transplant Proc*, 1981; 13: 286-288.
- KAKIZOE S, YANAGO K, STARZL TE, DEMETRIS AJ: Evaluation of protocol before and after reperfusion biopsies from human orthopic liver allografts: Considerations of preservation and early immunologic injury. *Hepatology*, 1990, 11: 932-941.
- KAMADA N, DAVIES HffS, ROSER B. Reversal of transplantation immunity by liver grafting. *Nature*, 1981; 292: 840-842.
- KAMADA N. The immunology of experimental liver transplantation in the rat. *Immunology*, 1985; 55 : 369-389.

- KIRBY RM, YOUNG JA, HUBSCHER SG, ELIAS E, McMASTER P. The accuracy of aspiration cytology in the diagnosis of rejection following orthotopic liver transplantation. *Transplant Int*, 1988; 1: 119-126.
- KLINTMALM GBG, NERY JR, HUSBERG BS, GONWA TA, TILLERY GW. Rejection in liver transplantation. *Hepatology* 1989; 10: 978-985.
- KNECHTLE SJ, KALAYOLU M, D'ALESSANDRO AM, et al. Histocompatibility and liver transplantation. *Surgery* 1993; 114(4): 667-71.
- KNECHTLE SJ, KOLBECK PC, TSUCHIMOTO S, COUNDOURIOTIS A, SANFILLIPO F, BOLLINGER RR. Hepatic transplantation into sensitized recipients. Demonstration of hyperacute rejection. *Transplantation*, 1987; 43: 8-12.
- KUBOTA K, ERICZON BG, REINHOLT FP. Comparison of fine-needle aspiration biopsy and histology in human liver transplants. *Transplantation*, 1991; 51: 1010-1013.
- LARSEN CP, AUSTYN JM, PHIL D, MORRIS PJ. The role of graft-derived dendritic leukocytes in the rejection of vascularized organ allografts. *Ann Surg* 1990; 212:308-317.
- LATINNE D, SQUIFFLET JP, De BRUYERE M, PIRSON Y, GIANELLO P, SOKAL G, ALEXANDRE GPJ. Subclasses of ABO isoagglutinin in ABO- incompatible Kidney transplantation. *Transplant Proc*, 1989; 21: 641-642.

- LAUTENSCHLAGER I, HOCKERSTEDT K, AHONEN J, et al. Fine-needle aspiration biopsy in the monitoring of liver allografts: II. Applications to human liver allografts. *Transplantation*, 1988; 46:47.
- LAUTENSCHLAGER I, HOCKERSTEDT K, SALMELA K, ISONIEMI H, HOLMBERG C, JALANKO H, HAYRY P. Fine-needle aspiration biopsy in the monitoring of liver allografts. *Transplantation*, 1990; 50: 798-803.
- LAUTENSCHLAGER I, HOCKERSTEDT K, TESKINEN E, et al. Fine needle aspiration cytology of liver allograft in the pig. *Transplantation*, 1984; 38: 330-334.
- LERUT J, DEMETRIS AJ, SNEBER AC, et al. Intrahepatic bile duct strictures after human orthopic liver transplantation. Recurrence of primary sclerosing cholangitis or an unusual presentation of allograft rejection ? *Tranplant Int* 1988; 1:127-30.
- LOWES JR, HUBSCHER SG, NEUBERGER JM. Chronic rejection of the liver allograft. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22(2): 401-20
- LUDWIG J, BATTS KP, McCARTY RL. Ischemic cholangitis in hepatic allografts. *Mayo Clin Proc* 1992; 67: 519-26.
- LUDWIG J, GROSS JB, PERKINS JD et al. Persistent centrilobular necrosis in hepatic allografts. *Hum Pathol* 1990; 21, 656-661.

- LUDWIG J, WEISNER RH, BATTS KP, PERKINS JP, KROMN RAF. The acute vanishing bile duct syndrome (acute irreversible rejection) after orthotopic liver transplantation. *Hepatology*, 1987; 7: 476-483.
- LUDWIG J. Classification and terminology of hepatic allograft rejection: whither bound ? *Mayo Clin Proc*, 1989; 64: 676-679.
- MADDREY WC, VAN THIEL DH. Liver transplantation: an overview. *Hepatology*, 1988; 8(4): 948-959.
- MADSEN JC, SUPERINA RA, WOOD KJ, MORRIS PJ. Immunological unresponsiveness induced by recipient cells transfected with donor MHC genes. *Nature* 1988; 332: 161-164.
- MANEZ R, WHITE LT, LINDEN P, KUSNE S, MARTIN M, KRAMER D, DEMETRIS AJ, VAN THIEL DH, STARZL TE, DUQUESNOY RJ. The influence of HLA matching on cytomegalovirus hepatitis and chronic rejection after liver transplantation. *Transplantation* 1993; 55: 1067-1071.
- MARKUS B, DUQUESNOY R, GORDON RD. Histocompatibility and liver transplant outcome. *Transplantation* 1988; 46: 372-377.
- McCAUGAN GW, DAVIES JS, WAUGH JA. A quantitative analysis of T lymphocyte populations in human liver allografts undergoing rejection: the use of monoclonal antibodies and double immunolabelling. *Hepatology* 1990; 12; 1305-1313.

McDIARMID SV, KLINTMALM GB, BUSUTTIL RW. FK 506 conversion for intractable rejection of the liver allograft. *Transpl-Int.*, 1993; 6(6): 305-312.

MELNICK JL, ADAM E, DEBAKEY ME. Possible role of cytomegalovirus in atherogenesis. *JAMA* 1990; 263: 2204-2207.

MERION RM, COLLETTI LM. Hyperacute rejection in porcine liver transplantation. *Transplantation*, 1990; 49: 861-868.

MOORE FD, SMITH LL, BURNAP TK, et al: One stage homotransplantation of the liver following total hepatectomy in dogs. *Transplantation*, 1959, 6:103.

MOR E, GONWA TA, HUSBERG BS, GOLDSTEIN RM, KLINTMALM GB. Late onset acute rejection in orthotopic liver transplantation-associated risk factors and outcome. *Transplantation* 1992; 54: 821-824.

MORRIS PJ. Histocompatibility antigens and transplantation reflexions over 20 years. *Immunol Lett* 1989; 21: 25-32.

MURRAY JE. Remembrances of the early days of transplantation. *Transplant Proc.* 1981; 13 (suppl.): 3-5.

MURRAY JF, MERRIL JP, DAMMIN GJ. Study on transplantation immunity after total body irradiation: clinical and experimental investigation. *Surgery* 1960; 48: 272-284.

NAGAFUCHI Y, HOBBS KEF, THOMAS HC, SCHVER PJ. Expression of beta-2 microglobulin on hepatocytes after liver transplantation. *Lancet* 1985; 1: 551-554.

NAKANUMA Y, SASAKI M. Expression of blood group-related antigens in the intrahepatic biliary tree and hepatocytes in normal liver and various hepatobiliary diseases. *Hepatology*, 1989; 10: 174-178.

NASHAN B, SCHLITT HJ, WITTEKIND C, RINGE B, WONIGEIT K, PICHLMAYR R. Patterns of immune activation during the first four weeks in liver transplanted patient. *Transplant Proc*, 1989; 21:3623.

NEUBERGER JM, ADAMS DH. Is HLA matching important for liver transplantation? *J Hepatol* 1990; 11: 1-4.

NOACK KB, WIESNER RH, BATTIS K, et al. Severe duct openic rejection with features of vanishing bile duct syndrome: clinical, biochemical, and histologic evidence for spontaneous resolution. *Transplant Proc* 1991; 23: 1448-1451.

O'GRADY JG, ALEXANDER GJM, HAYLLAR KM, WILLIAMS R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1989, 97: 439-445.

O'GRADY JG, ALEXANDER GJM, SUTHERLAND S, WILLIAMS R.

Cytomegalovirus infection and donor/recipient HLA antigens: interdependent co-factors in pathogenesis of vanishing bile duct syndrome after liver transplantation. *Lancet* 1988; 2: 302-305.

OGUMA S, BELLE S, STARZL TE. A histometric analysis of chronically rejected human liver allografts: insights into the mechanism of bile duct loss, direct immunologic and ischaemic factors. *Hepatology* 1989; 9: 204-209.

OGURA K, TERASAKI PI, KOYAMA H, CHIA J, IMAGAWA DK, BUSUTTIL RW. High one-month liver graft failure rates in flow cytometry crossmatch-positive recipients. *Clin-Transplant*, 1994, 8: 111-115.

OKADA Y, JINNO K, MORIWAKI S. et al. Blood group antigens in the - intrahepatic biliary tree. I Distribution in the normal liver. *J Hepatol*, 1988; 6: 63-70.

OPELZ G, MYTILINEOS J, SCHERER P. DNA typing: An important step forward ? *Transplant Int* 1992; 5: S580-582.

PAYA CV, HERMANS PE, SMITH TF, RAKELA J, WIESNER RH, KROM RAF, TORRES VE. Efficacy of ganciclovir in liver and kidney transplant recipients with severe cytomegalovirus infections. *Transplantation* 1988; 46: 229-234.

- PAYA CV, HERMANS PE, WASHINGTON JA, SMITH TF. Incidence, distribution and outcome of episodes of infection in 100 orthotopic liver transplantation. *Mayo Clin Proc* 1989; 64: 555-564.
- PAYA CV, WIESNER RH, HERMANS PE, LARSON-KELLER JJ, ILSTRUP DM, KROM RAF, MOORE SB, LUDWIG J, SMITH JF. Lack of association between cytomegalovirus infection, HLA matching and the vanishing bile duct syndrome after liver transplantation. *Hepatology* 1992; 16: 66-70.
- PEARCE J, KAY S, LEE H. Donor-specific IgG antibody and the chronic rejection of renal allografts. *Surgery* 1975; 78: 14-21.
- PICHLMAYR R, GUBERNATIS G. Rejection of the liver and review of current immunosuppressive protocols. *Transplant Proc*, 1987; 19: 4367-4369.
- PIRSCH JD, KALAYOGLU M, HAFEZ GR, D'ALESSANDRO AM, SOLLINGER HW, BELZER FO. Evidence that the vanishing bile duct syndrome is vanishing. *Transplantation* 1990; 49: 1015-1018.
- POLSON RJ, PORTMAN B, NEUBERGER J, CALNE RY, WILLIAMS R. Evidence for disease recurrence after liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1989; 97: 715-725.
- PORTER KA. The pathology of rejection in human liver allografts. *Transplantation Proc*, 1988; 20, 483-485.

QUIROGA J, COLINA I, DEMETRIS JA, STARZL TE, VAN THIEL DH. Cause and timing of first allograft failure in orthotopic liver transplantation: a study of 177 consecutive patients. *Hepatology*, 1992; 14: 1054-1062.

RENARD TH, ANDREWS WS. An approach to ABO-incompatible liver transplantation in children. *Transplantation*, 1992; 53:116-121.

REYNES M. Transplantation hépatique. *Revue Française des Laboratoires* 1992; 241: 105-110.

RIBEIRO J, NORDLINGER B, BALLETT F et al. Intransplenic hepatocellular transplantation corrects hepatic encephalopathy in portacaval-shunted rats. *Hepatology* 1992; 15: 12-18.

SALIBA F, EYRAND D, SAMUEL D, DAVID MF, ARULNADEN JL, DUSSAIX E, BISMUTH H. A randomized controlled trial of acyclovir for the prevention of CMV infection and disease in liver transplant recipients. *Transplant Proc*, 1995 (aceito para publicação).

SALIBA F, GUGENHEIM J, SAMUEL D, CIARDULLO M, REYNES M, BISMUTH H. Orthotopic liver transplantation in humans: monitoring by serial graft biopsies. *Transplant Proc*, 1987; 19: 2454-2456.

SAMUEL D, GUGENHEIM J, CANON C, SALIBA F, BISMUTH H. Use of OKT3 for late acute rejection in liver transplantation. *Transplant Proc* 1990; 22: 1767-1768.

SÁNCHEZ-URDAZPAL L, BATTS KP, GORES GI, et al. Increased bile duct complications in liver transplantation across the ABO barrier. *Ann Surg*, 1993; 218: 152-158.

SANCHEZ-URDAZPAL L, GORES GJ, WARD EM, et al. Ischemic-type biliary complications after orthopic liver transplantation. *Hepatology* 1992; 16: 49-53.

SCHLITT HJ, NASHAN B, KRICK P, RINGE B, WITTEKIND C, WONIGEIT K, PICHLMAYR R. Intragraft immune events after human liver transplantation. Correlation with clinical signs of acute rejection and influence of immunosuppression. *Transplantation* 1992; 54: 273-278.

SCHLITT HJ, NASHAN B, RINGE B, BUNZENDAH H, WITTEKIND C, WONIGEIT K, PICHLMAYR R. Differentiation of liver graft dysfunction by transplant aspiration cytology. *Transplantation*, 1991; 51: 786-792.

SCHNEIDERMAN DJ, CELLO JP, LANG FC. Papillary stenosis and sclerosing cholangitis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1987; 106: 546-9.

SEBAGH M, FARGES O, KALIL AN, SAMUEL D, BISMUTH H, REYNES M. Sclerosing cholangitis following human orthopic liver transplantation. *Am J Surg Pathol* 1995; 19:81-90.

SHAW BW Jr, CATTRAL M, LANGNAS AN, HEFFRON TG, FOX IJ.

Orthotopic auxiliary liver transplantation: the treatment of choice of acute liver failure ? *Hepatology* 1993; 18: 66A.

SHAW BW, GORDON RD, CASAVILLA A, et al. Retransplantation of the liver.

Sem Liver Dis 1985; 5, 394-401.

SINGH N, DUMMER JS, KUSNE S, BREINIG MK, ARMSTRONG JA,

MAKOWKA L, STARZL TE, HO M. Infections with cytomegalovirus and herpesviruses in 121 liver transplant recipients: transmission by donated organ and the effect of OKT3 antibodies. *J Infect Dis* 1988; 158: 124-131.

SINGH N, MIELES L, YU VL, STARZL TE. Decreased incidence of viral

infections in liver transplant recipients. Possible effects of FK 506?. *Dig-Dis-Sci.*, 1994; 39(1): 15-18.

SKOSKIEWICZ MJ, COLVIN RB, SCHNEEBERGER EE, RUSSEL PS.

Widespread and selective induction of major histocompatibility complex-determined antigens in vivo by gamma interferon. *J Exp Med* 1985; 162: 1645-1664.

SNOVER DC, FREESE DK, SHARP HL, BLOOMER JR, NAJARIAN JS,

ASCHER NL. Liver allograft rejection. An analysis of the use of biopsy in determining the outcome of rejection. *Am J Surg Pathol*, 1987; 11: 1-10.

- SNOVER DC, SIBLEY RK, FREESE DK et al. Orthotopic liver transplantation: a pathological study of 63 serial liver biopsies from 17 patients with special reference to the diagnosis features and natural history of rejection. *Hepatology* 1984; 4: 1212-1222.
- SNOVER DC. Liver transplantation. In: *The pathology of organ transplantation*, Sale Ge (ed). Boston: Butterworths, 1990; 385-435.
- SO SKS, PLATT JL, ASCHER NL, SNOVER DC. Increased expression of class I major histocompatibility complex antigens on hepatocytes in rejecting human liver allografts. *Transplantation* 1987; 43: 79-85.
- STARZL TE, BRETTSCHEIDER L, PUTMAM CW: Transplantation of the liver. In Popper H, Schaffner F: *Progress in Liver Diseases*, 1970, 3: 495-542, New York, Grune & Stratton.
- STARZL TE, DEMETRIS AJ, VAN THIEL D. Liver transplantation (first of two parts). *N Engl J Med*, 1989a; 321: 1014-1022.
- STARZL TE, DEMETRIS AJ, VAN THIEL D. Liver transplantation (second of two parts). *N Engl J Med*, 1989b; 321: 1092-1099.
- STARZL TE, KAUPP HA, BROCK DR, et al: Reconstructive problems in canine liver homo-transplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow. *Surg Gynaecol Obstet* , 1960; 733-743.

STARZL TE, MARCHIORO TL, VON KAULLA KN, et al.

Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynaecol Obstet* 1963; 117: 659-676.

STRASSER S, SHEIL AG, GALLAGHER ND, et al. Liver transplantation for primary sclerosing cholangitis versus primary biliary cirrhosis: a comparison of complications and outcome. *Gastroenterol Hepatol* 1993; 8: 238-43.

TAUBE D, WELSH K, BEWICK M. Pretreatment of human renal allografts with monoclonal antibodies to ensure long-term tolerance. *Transplant Proc* 1987; 19: 1961-1963.

TOKUNAGA Y, TANAKA K, FUJITA S, YAMAGUCHI T, SAWADA H et al. Living related liver transplantation across ABO blood groups with FK 506 and OKT3. *Transpl Int* 1993; 6: 313-318.

VAN HOEK B, WIESNER RH, LUDWIG J et al. Combination immunosuppression with azathioprine reduces the incidence of ductopenic rejection and vanishing bile duct syndrome after liver transplantation. *Transplant Proc* 1991; 23, 1403-1405.

VIERLING JM, FENNEL RH. Histopathology of early and late human hepatic allograft rejection : evidence of progressive destruction of interlobular bile ducts. *Hepatology*, 1985; 5: 1076-1082.

- WHITE RM, ZAIJKOAB, DEMETRIS AJ, BRON KM, DEKKER A, STARZL TE. Liver transplant rejection : angiographic findings in 35 patients. *AJR* 1987; 148: 1095-1098.
- WIESNER RH, LUDWIG J, VAN HOEK B, KROM RAF. Current concepts in cell-mediated hepatic allograft rejection leading to ductopenia and graft failure. *Hepatology* 1991; 14; 721-729.
- WIGHT DGD, PORTMAN B. Pathology of liver transplantation In: *Liver transplantation*, Calne RY (ed). London: Grune and Stratton, 1987; 385-435.
- WIGHT DGD. Differential diagnosis of cholestasis in liver allografts. *Transplantation Proc* 1986; 18 (suppl 4), 152-156.
- WILLIAMS JW, PETERS TG, VERA SR, BRITT LG, VAN VOORST SJ, SAGGIT RC. Biopsy-directed immunosuppression following hepatic transplantation in man. *Transplantation*, 1985, 39: 689-696.
- WINKLER M, RINGE B, JOST U, MELTER M, RODECK B et al. Conversion from cyclosporin to FK 506 after liver transplantation. *Transpl Int* 1993; 6: 319-324.
- WOOD KJ, FARGES O. Tolerance and liver transplantation. In : J.M Neuberger et D. Adams ed.: *Immunology of liver transplantation*. Edward Arnold. (ed), Londres 1993; 139-151.

YAMAGA K, LEBEAU G, MARSH JW, et al: Hepatic artery reconstruction for hepatic artery thrombosis after orthotopic liver transplantation. Arch Surg, 1990, 125: 628-631.

YANDZA T, LAMBERT T, ALVAREZ F, GAUTHIER F, JACOLOT D, HUAULT G, FABRE M, VALAYER J. The outcome of ABO incompatible liver transplantation in children with no specific alloantibodies at the time of transplantation. Transplantation 1994, 58: 46-50.