

PRESERVAÇÃO DO FÍGADO COM UMA NOVA SOLUÇÃO DE SACAROSE TAMPONADA COM FOSFATO

F. VEIGA FERNANDES, R. CEIA, M.P. HENRIQUES, J. COUTINHO, F. CAREPA, A. BRANCO, M. DEMIREL, R.L. PINHEIRO, A. BAPTISTA, F. BARROS

Serviço de Cirurgia I, Cirurgia Experimental, Serviços Farmacêuticos, Instituto de Anatomia Patológica, e Serviço de Patologia Clínica. Hospital de Santa Maria, Faculdade de Medicina de Lisboa.

RESUMO

Com a finalidade de analisar a eficácia de conservação de uma nova solução de Sacarose Tamponada com Fosfato (S.T.F.), elaborou-se o seguinte protocolo de estudo comparativo experimental, em 18 fígados de cão colhidos e conservados durante 24 horas a 4° Centígrados em 3 solutos de conservação (S.T.F., Lactato de Ringer e EuroCollins). No fim deste período estudou-se em cada série o efeito da reperfusão hepática a 37° sobre os seguintes parâmetros: peso do órgão, volume de excreção biliar, biopsia hepática, alterações do Na, K, Ca e P e de alguns parâmetros de avaliação da função hepática. Os resultados obtidos confirmam que a S.T.F. tem um efeito anti-hidratante sobre a célula hepática semelhante aquela que foi descrita recentemente por Lam et al para o rim. Das três soluções estudadas a S.T.F. é a única que impede a hidratação e o ganho de peso pelo órgão depois do período de isquemia fria. Em comparação com o EuroCollins, a S.T.F. é uma solução muito fácil de preparar, é pouco dispendiosa, tem um efeito significativo na preservação da estrutura histológica hepática, condiciona um maior volume de excreção biliar durante o período de recirculação a 37° e provavelmente leva a uma menor exspolição celular de K pelo hepatocito. Por estas razões a solução de Sacarose Tamponada com Fosfato poderá substituir o EuroCollins com clara vantagem na conservação do fígado.

SUMMARY

Liver preservation with phosphate-buffered sucrose: a new cold storage solution

The efficacy of the new phosphate-buffered sucrose solution (PBS), was compared with the conventional Euro-Collins (EC) and the lactated Ringer solution (LR), in its capacity to preserve the canine liver in cold storage. Three groups of 6 canine livers, each group in one of those solutions, were put in cold storage for 24 h at 4 degrees centigrade. At the end of this period the effect of warm hepatic reperfusion was studied in relationship with the following parameters: weight of the liver, bile excretion, hepatic biopsy, Na, K, Ca, P and some tests used to evaluate the hepatic function. The results obtained confirm, that PBS has an important impermeant effect over the hepatocyte, simulating that described recently by Lam et al to the kidney. Contrary to the EC and LR, the PBS inhibits hypothermic cell swelling, is more effective in the preservation of the liver histology, and has an opposed effect to the weight gain tendency induced by cold storage. During the period of warm reperfusion, high volumes of bile excretion and lesser levels of K depletion were observed in the PBS model. PBS is easy to prepare, and it is not expensive. For these reasons PBS could be an advantageous substitute of the EC in liver preservation.

INTRODUÇÃO

Até há poucos anos a maior parte das soluções utilizadas na conservação de órgãos continham uma substância impermeabilizante do tipo da glucose, como no EuroCollins (EC) ou manitol-citrato (solução de Citrato Hiperosmolar), que retinham a água no espaço extracelular e impediam a dilatação osmótica da célula. Contudo, está demonstrado que o hepatocito é permeável a alguns destes produtos, o que explica o insucesso destas soluções na conservação prolongada deste órgão¹. Em 1986, WAHLBERG verifica que a associação de Rafinose com o anião Lactobionato é muito eficaz na supressão da hidratação hepática². É neste pormenor que fundamentalmente se baseia o fabrico do novo Wisconsin (UW), que permite prolongar o período de isquemia fria do fígado até às 24 horas. O grande inconveniente deste soluto resulta do facto de ser muito difícil obter uma perfeita estabilização dos seus componentes, pelo que a sua aquisição recorrendo aos circuitos comerciais se torna bastante dispendiosa. Recentemente LAM et al³, demonstraram que um soluto de sacarose tamponada com fosfato (STF)

tem qualidades impermeabilizantes para a célula renal muito semelhantes aos da mistura de rafinose lactobionato. Este soluto tem a grande vantagem de ser muito fácil de preparar, de ser pouco dispendioso e de permitir a conservação do rim até às 24 horas, tal como UW.

Com a finalidade de comprovar a eficácia desta nova solução na conservação do fígado elaborámos o seguinte protocolo de estudo comparativo experimental: em dezoito fígados de cão colhidos e conservados a 4° C em 3 diferentes meios de conservação (Ringer, EC e STF). Vinte e quatro horas depois e usando o sangue do próprio cão dador estudou-se num circuito fechado porta-cava, o efeito da reperfusão a 37° C sobre os seguintes parâmetros: peso do órgão, débito de excreção biliar, biopsia hepática, alterações electrolíticas e estudo de alguns parâmetros bioquímicos mais comuns de avaliação da função hepática.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizaram-se cães rafeiros com peso entre 12 e 20 kg após um período prévio de jejum de cerca de 24 horas. A indução

anestésica foi provocada com 30 mg/kg de pentotal sódico administrado por via endovenosa. O animal manteve-se sob anestesia com isoflurano introduzido na mistura de oxigênio-ar do sistema de ventilação mecânica.

Técnica Cirúrgica de Colheita

Em cerca de dois terços dos animais utilizou-se a técnica preconizada pelo grupo de Starlz nos EUA⁴, com modificações mínimas. Através de uma laparotomia mediana e depois de aberto o diafragma, procede-se ao isolamento da aorta, deixando exposto o tronco celiaco e a artéria mesentérica superior, até à bifurcação ilíaca. Depois de incisão do fundo da vesícula e do colédoco executa-se uma lavagem cuidadosa da vesícula e VBP com soro arrefecido. A artéria gastro-duodenal é então laqueada junto ao duodeno. Depois isola-se a veia porta até à confluência da veia mesentérica superior e através da veia esplênica introduz-se o líquido de lavagem e arrefecimento. A aorta distal é canulizada para posterior exsanguinação e recolha de 2 a 4 unidades de sangue a utilizar 24 h depois no circuito de reperfusão. Após laqueação da veia e da artéria mesentérica superior, inicia-se a hipotermia hepática com 1500 ml de Lactato de Ringer a uma pressão de 60 cm de OH2 em gota livre. Através de um tubo colocado na aorta abaixo das renais, o cão é simultaneamente sangrado para dentro de sacos colectores de sangue. No fim da infusão, procede-se ao rápido isolamento e excisão em bloco do fígado, após secção da veia cava supra-hepática acima do diafragma, veia cava inferior infra-hepática acima das renais e excisão de uma larga porção de aorta, na qual vem incluído o tronco celiaco íntegro. O fígado é em seguida preparado, procedendo-se à colecistectomia, canulização da VBP e injeção pela veia porta do líquido de conservação, no qual o fígado vai ser preservado a 4°C até ao dia seguinte.

Num terço dos animais, utilizou-se fígado de cães receptores incluídos num outro esquema de investigação e de treino de transplantações ortotópicas. Nestes casos seguiu-se o processo habitual de isolamento do fígado com secção de todos os seus ligamentos. Mas ao contrário do esquema anterior, fez-se laqueação da artéria hepática e canal biliar junto ao hilo e perfusão fria com lactato de Ringer através da porta, imediatamente a seguir à secção da veia cava e porta junto ao fígado.

Grupos Experimentais e Reperusão

A composição dos 3 solutos de conservação utilizados nas 3 séries de 6 fígados cada, estão representados no Quadro 1.

Na reperusão normotérmica após 24 horas de isquemia fria utilizou-se uma Bomba de tipo Roller introduzida no circuito porto-cava, carregado com sangue, após drenagem externa da via biliar, laqueação da cava infra-hepática, isolamento estanque do sistema, e expurga de todas as bolhas de ar. O débito utilizado na Bomba foi de 100 a 120 ml/min,

QUADRO 1 - Características e constituintes das soluções

Componentes	EC	Ringer	STF
Sódio mM/l	10	130	120
Potássio mM/l	115	4	—
Cloreto mM/l	15	109	—
Bicarbonatos mM/l	10	—	—
Fosfato mM/l	57,5	—	60
Glucose g/l	194	—	—
Sacarose mM/l	—	—	140
Osmolalidade mOsm/l	355	273	310
pH mEq/l	7,0	6,3	7,2

permanecendo o fígado mergulhado durante 4 horas na solução de lactato de Ringer à temperatura de 37°C.

Parâmetros de Avaliação

Em todos os fígados se fez determinação do peso e colheram-se amostras para exame histológico no início, 24 horas depois de conservação fria e no fim da reperusão quente. O débito biliar também foi determinado no fim deste período, sendo os resultados expressos em volumes/unidades de Insulina. A determinação da concentração de electrólitos (Na, K, Ca), glucose, amilase, LDH, CPK e alguns parâmetros de função hepática (como a Bilirubina, Transaminases glutâmicoxalacética e glutâmico-pirúvica) foram determinados no início, no fim da isquemia fria e de hora a hora durante a reperusão. As lâminas histológicas foram analisadas de modo cego, sem conhecimento prévio do observador sobre quais eram os grupos experimentais a que pertenciam as biopsias. Foi dada especial atenção à pesquisa de sinais de necrose, esteatose celular e dilatação sinusal. Estas duas últimas alterações, foram classificadas de acordo com uma escala progressiva semi-quantitativa de 3 valores (-, +, e ++).

ESTATÍSTICA

Os resultados analíticos foram expressos pela média e desvio padrão da média (SD). A comparação entre grupos foi feita pelo test de *t* de Student.

RESULTADOS

Em relação às variações de peso, expressas em percentagem do peso inicial do órgão, verificou-se que após isquemia fria de 24 horas, os fígados conservados em EuroCollins e Lactato de Ringer sofreram um aumento de peso, por provável acumulação de água que variou entre, respectivamente 16,8% ± 2,8% e 14,5% ± 9,9%. Pelo contrário no modelo de conservação em STF houve um decréscimo médio de peso de 5,9% ± 4,2%. Estas diferenças desapareceram ao fim de 4 horas de reperusão a 37°C, observando-se no final em todos os modelos um acréscimo significativo de peso, para mais de 30% do peso inicial do órgão (EC = 33,6% ± 18,3%, STF = 39,6% ± 16,2% e Lactato 47,7%, *p* inter modelos > 0,01).

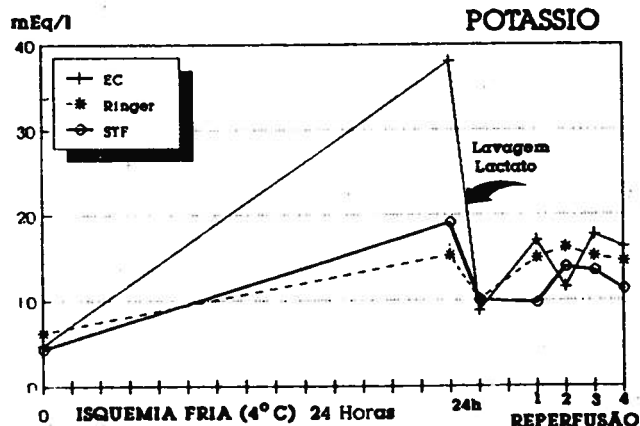


Fig. 1 — Variações do potássio extraído das supra-hepáticas antes, após 24 h de isquemia fria, estudo do efeito da lavagem com Lactato de Ringer ao fim deste período e efeito da reperusão a 39°C.

Parâmetros Hidroelectrolíticos

Os valores do sódio do aspirado das supra-hepáticas, depois de lavagem com lactato de Ringer no início da experiência e no fim de 24 h de isquemia fria, estavam ligeiramente diminuídos em relação ao normal do cão ($152 \pm 6,6 \text{ mEq/l}$). No final dos períodos de isquemia fria e de recirculação a 37°C não se encontraram diferenças significativas ($p > 0,1$), entre os 3 líquidos de conservação (Quadro 2).

Em relação aos níveis de Potássio (Quadro 3) os valores iniciais foram idênticos ao normal do cão ($4,5 \pm 0,8 \text{ mEq}$). Após 24 h de isquemia fria o valor de K sobe francamente em todos os modelos, mas mais na preparação com EC, cuja composição electrolítica é semelhante à do compartimento intracelular (Fig. 1). Estes valores reduzem-se mas não se normalizam após lavagem com Lactato de Ringer, desaparecendo no entanto, as diferenças inerentes à composição de líquidos (Quadro 3). Na Fig. 2 indica-se o efeito produzido sobre os níveis de K no modelo com EC, pelas lavagens sucessivas até 600 ml de lactato. Uma hora após reperfusão os valores voltam a subir para níveis que se mantêm até final da experiência. De todos os modelos utilizados, o que apresentou menores elevações de K após reperfusão quente foi o da preparação com STF (Fig. 1).

Não encontramos diferenças significativas entre os 3 modelos em relação ao Ca e P, nas várias fases da experiência. De um modo geral, após 24 h de isquemia fria, o Ca tem tendência a diminuir (valor normal no cão $7,5 \pm 4,4 \text{ mEq/l}$) e o P tende a elevar-se (valor basal $2,9 \pm 1,3 \text{ mEq/l}$). Estas alterações mantêm-se durante a reperfusão normotérmica (Quadro 4 e 5).

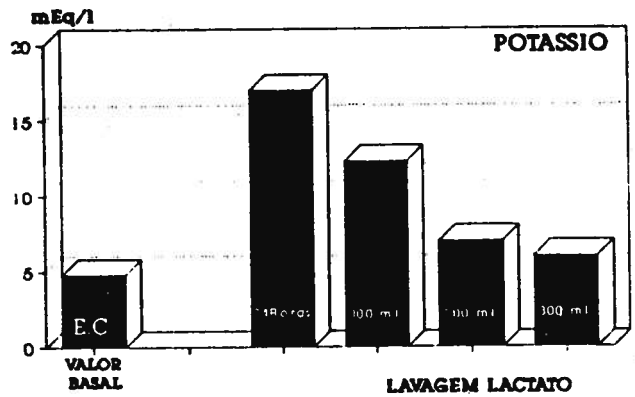


Fig. 2 — Decréscimo dos níveis de potássio extraído das supra-hepáticas ao fim de 24 h de isquemia fria após lavagens sucessivas com Lactato de Ringer através da veia porta.

Parâmetros Bioquímicos

Os valores de TGO (Fig. 3), TGP (Fig. 4), e Glucose (Fig. 5), colhidos nas supra-hepáticas após lavagem inicial com Lactato situam-se em níveis superiores ao normal do cão (Valores normais respectivos, $31,4 \pm 12,1 \text{ IU/L}$, $26,8 \pm 10,1 \text{ IU/L}$ e $65 \pm 7,7 \text{ IU/L}$). A LDH (Quadro 6) não fica alterada (Normal = $373 \pm 216 \text{ IU/L}$) e a CPK (Quadro 7) e a Amilase descem (Normal = $244 \pm 132 \text{ IU/L}$ e $1341 \pm 256 \text{ IU/L}$). Após isquemia fria de 24 h todos aqueles parâmetros sobem excepto a Amilase. A conservação em

QUADRO 2 — Valores de Na em mEq/l

		24 h Isquemia 4.º		Recirculação a 37.º C			
		Lavagem Lactato		1 h	2 h	3 h	4 h
		Início	Fim				
EC	M	123,5	131,6	136,2	149,9	139,5	145
	SD	$\pm 7,3$	$\pm 7,3$	$\pm 6,7$	$\pm 21,1$	$\pm 23,3$	$\pm 22,6$
Ringer	M	131,6	136,3	140,5	154,3	142,3	148,5
	SD	$\pm 8,7$	$\pm 6,7$	$\pm 8,6$	$\pm 19,8$	$\pm 9,1$	$\pm 10,3$
STF	M	129,5	120,5	141,6	136,6	132,0	136,8
	SD	$\pm 4,9$	$\pm 6,4$	$\pm 14,3$	$\pm 13,9$	$\pm 13,7$	$\pm 17,8$

Valor normal do Na no cão, $152 \pm 6,6 \text{ mEq/l}$.

QUADRO 3 — Valores de K em mEq/l

		24 h Isquemia 4.º		Recirculação a 37.º C			
		Lavagem Lactato		1 h	2 h	3 h	4 h
		Início	Fim				
EC	M	38,0	8,0	17,0	11,6	17,7	16,3
	SD	$\pm 35,4$	$\pm 3,9$	$\pm 4,7$	$\pm 5,9$	$\pm 2,3$	$\pm 6,0$
Ringer	M	15,3	10,5	150	16,2	15,2	14,6
	SD	$\pm 4,7$	$\pm 2,8$	$\pm 9,4$	± 10	$\pm 3,8$	$\pm 3,5$
STF	M	19,1	10,1	9,7	13,9	13,5	11,3
	SD	$\pm 0,8$	$\pm 3,6$	$\pm 3,9$	$\pm 2,8$	$\pm 2,7$	$\pm 2,8$

Valor de normalidade do K no cão: $4,5 \pm 0,8 \text{ mEq/l}$.

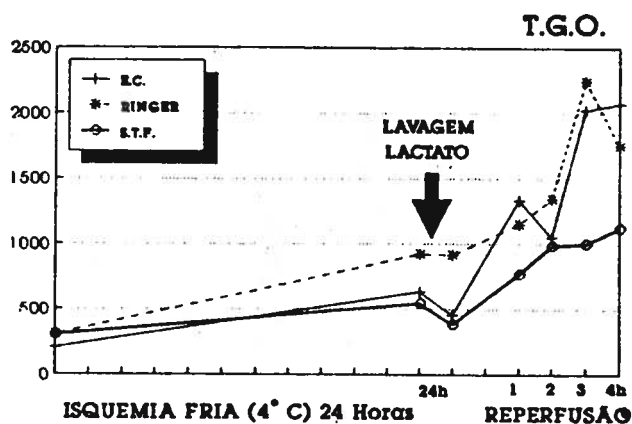


Fig. 3 — Valores da TGO antes e após 24h de isquemia fria, estudo do efeito da lavagem com Lactato e variações durante o período de reperfusão.

Lactato de Ringer determina níveis significativamente muito mais elevados de todos eles, se se exceptuar a glucose. Esta tendência acentua-se durante o período de reperfusão a 37° C. Contudo, os menores elevações de T.G.O. e T.G.P. foram observadas na preparação com S.T.F. (Fig. 3 e Fig. 4). Para os pontos de maior afastamento as diferenças foram significativas para o modelo — Lactato de Ringer ($p < 0,05$), mas não para o E.C. ($p > 0,05$).

Em relação à Glucose (Fig. 5) detectam-se níveis muito elevados no início da reperfusão na preparação com PBS. Pelo contrário no modelo com EC, níveis idênticos aos anteriores só são observáveis depois de 2 horas de recirculação. Na preparação basal com Lactato de Ringer estes valores são sempre mais baixos do que os dos modelos EC e STF durante todo o período de estudo.

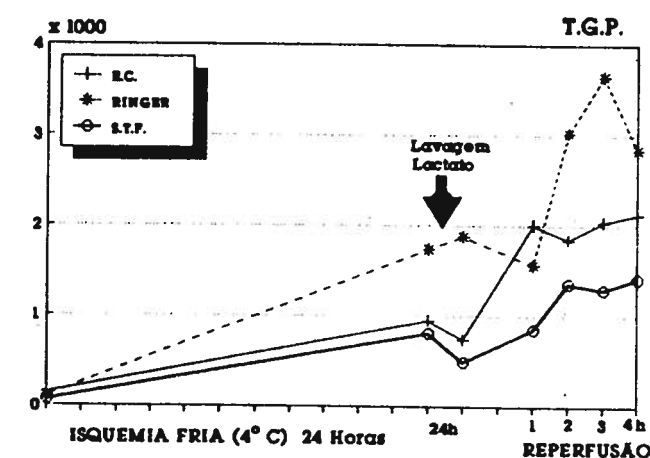


Fig. 4 — Evolução dos níveis de TGP nas várias fases da experiência.

Débito Biliar

O débito da Bilis após recirculação a 37° foi muito reduzido ou vestigial nos fígados previamente conservados em Lactato de Ringer. Pelo contrário, nos modelos conservados em EC obteve-se um débito médio de 20 Un/Ins e com a solução de STF um débito de 32 Un/Ins. A excreção biliar no modelo anóxico utilizado é máxima na primeira hora de recirculação, diminui na segunda e é inexistente depois.

Alterações Histológicas

As alterações histológicas observadas após 24 hora de isquemia fria são muito discretas em qualquer dos modelos

QUADRO 4 — Valores de Ca em mEq/l

		24 h Isquemia 4.º		Recirculação a 37.º C			
		Lavagem Lactato					
		Início	Fim	1h	2h	3h	4h
EC	M	4,1	5,3	3,9	3,9	4,1	4,1
	SD	± 1,2	± 0,5	± 0,6	± 0,6	± 0,3	± 0,7
Ringer	M	5,6	5	4,8	4,6	5	5,1
	SD	± 0,2	± 0,6	± 0,4	± 0,1	± 0,2	
STF	M	4,3	4,2	4,6	4,7	4,9	4,8
	SD	± 0,7	± 1,0	± 0,9	± 0,8	± 0,8	± 0,8

Valor de normalidade do Ca no cão: 7,5 ± 4,4 mEq/l.

QUADRO 5 — Valores de P em mEq/l

		24 h Isquemia 4.º		Recirculação a 37.º C			
		Lavagem Lactato					
		Início	Fim	1h	2h	3h	4h
EC	M	19	6,3	5,8	12,3	15,9	14,7
	SD	± 3,5	± 2,9	± 1,2	± 3,5	± 1,7	± 1,3
Ringer	M	8,3	6,3	11,8	21,2	11,6	6,2
	SD	± 1,4	± 2,7	± 7,8	± 5,8	± 2,9	
STF	M	37,9	13,5	12,1	13,4	13,8	10,7
	SD	± 2,3	± 0,4	± 0,5	± 2,6	± 0,7	± 2,7

Valor de normalidade do P no cão: 2,9 ± 1,3 mEq/l.

QUADRO 6 — C.P.K. (Unidades IU/L)

		24h Isquemia 4.º		Recirculação a 37.º C			
		Início	Fim	1h	2h	3h	4h
EC	M	251	122	291	375	529	451
	SD	± 159	± 109	± 153	± 132	± 212	—
Ringer	M	712	700	1309,7	1394	1643,5	2242
	SD	± 498	± 533	± 920,8	± 661	± 1187	—
STF	M	326,5	197,5	262,3	652	612	753
	SD	± 96,9	± 137,5	± 253,2	± 287,4	± 583	—

QUADRO 7 — L.D.H. (Unidades IU/L)

		24h Isquemia 4.º		Recirculação a 37.º C			
		Início	Fim	1h	2h	3h	4h
EC	M	2768	1430	2700	2168	4080	3450
	SD	± 1559	± 620	± 953	± 789	± 1671	—
Ringer	M	5605	4771	4290	1294	3094	3049
	SD	± 500	± 2000	± 1753	± 560	± 1231	—
STF	M	2152	800	2631	3185	3236	3198
	SD	± 1751	± 513	± 1761	± 830	± 1079	± 766

QUADRO 8 — Alterações Histológicas

Esteatose						Dilatação sinusal						
Basal			Isquemia Fria			Basal			Isquemia Fria			
—	+	++	—	+	++	—	+	++	—	+	++	
1	2	—	1	2	—	EC	2	—	1	—	2	1
4	1	—	2	2	1#	Ringer	4	1	—	2	2	1#
6	—	—	5	1	—	STF	4	2	—	3	3	5

Com sinais de necrose

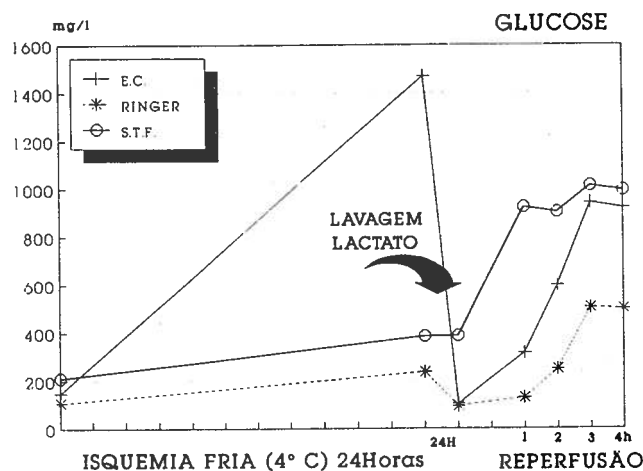


Fig. 5 — Níveis da glucose extraídos das supra-hepáticas antes e após a isquemia fria, estudo do efeito da lavagem com Lactato de Ringer às 24h e variações durante a reperusão a 37.º C.

de conservação utilizados. As modificações mais características consistem num certo grau de esteatose e de dilatação sinusal acompanhada ou não de uma discreta infiltração por eosinófilos. Alguns destes aspectos foram também observados nos espécimens basais colhidos no início das experiências (Quadro 8).

Só num dos fígados, do grupo conservado em Lactato de Ringer, foram observados sinais de necrose celular após 24 h de isquemia fria. No conjunto, os aspectos histológicos após conservação fria foram considerados idênticos aos observados nas amostras basais em 83% dos fígados conservados em STF, em 40% dos conservados em Lactato de Ringer e em 33% dos mantidos em EC. Com excepção do espécimen com sinais de necrose celular todas as alterações encontradas foram consideradas reversíveis.

A recirculação anóxica agravou as alterações histológicas descritas em qualquer dos modelos do estudo, mas também em todos estes casos, esse agravamento foi considerado reversível.

DISCUSSÃO

Todas as metodologias que se reclamam de eficazes na conservação de órgãos, relevam o facto de que a diminuição

da temperatura é o elemento fundamental na protecção da célula⁵. O arrefecimento nas primeiras horas a seguir à colheita, reduz ou bloqueia significativamente a tendência para a lesão celular e bioquímica induzida pela isquemia.

Há consenso actualmente, de que a temperatura óptima de conservação de órgãos se situa num limiar ligeiramente acima do ponto de congelação da água (a $\pm 4^\circ\text{C}$). No entanto, para estes níveis de hipotermia e à medida que o tempo passa constata-se que o frio não elimina completamente a tendência para a degenerescência e necrose celulares e inclusivamente favorece o agravamento de algumas destas lesões. Por exemplo, a dilatação celular secundária à anóxia é mais evidente em condições de hipotermia⁶ e está provado que o frio ao favorecer o bloqueio da bomba de sódio⁷ contribui significativamente para o desequilíbrio osmótico e o desvio do balanço iónico intercompartmental, com particular importância na hiper-hidratação celular e desregulação nas trocas do Na, K e Ca.

Por outro lado, o frio não impede a tendência aparentemente inexorável para as alterações mitocondriais (uma característica aparentemente precoce de irreversibilidade) e para a rotura da membrana celular¹¹. É muito provável que neste final, a confluência das múltiplas alterações bioquímicas descritas e que têm sido individualmente sobrevalorizadas, desempenhem em conjunto um papel fundamental. Referimo-nos à conhecida depleção do ATP, acumulação acidótica de iões hidrogénio e de Lactato⁸, e ainda à libertação radicais livres de oxigénio, cuja produção não é totalmente inibida pelo frio⁹.

Menos importante, embora ainda com certo significado clínico, são as alterações de perfusão vascular, variáveis de animal para animal, mas mais intensas no período inicial da revascularização do órgão. A generalidade dos trabalhos, dedicados ao estudo deste problema, apontam no sentido de que os defeitos de perfusão dependem da interacção dos efeitos resultantes da lesão do endotélio¹⁷, que apesar de tudo é muito resistente à anóxia^{10,11}, e das perturbações complexas ligadas à reologia eritrocitária, agregação de plaquetas e depósitos de fibrina. Estes efeitos poderão ser minorados pela acção do Haemacel¹² e de solutos de albumina purificada¹³, em relação aos eritrocitos; pela administração de prostaciclina, o mais potente inibidor conhecido da agregação plaquetária¹⁴ e pela associação da uroquinase, um activador do plasminogénio que previne os depósitos de fibrina¹⁵.

Existe presentemente consenso generalizado de que a intensidade ou benignidade do conjunto das alterações referidas ao fim do período de isquemia fria, condicionam directamente a rapidez subsequente da recuperação do órgão transplantado.

As vias até agora seguidas no sentido de minorar estes riscos não cobertos pelo arrefecimento, têm sido fundamentalmente de dois tipos:

1) Utilização de técnicas aparentemente muito eficazes de preservação prolongada de órgãos baseadas em modelos de perfusão e oxigenação contínua e prolongada sob hipotermia. Com estes métodos é possível por exemplo, manter a viabilidade da função renal até aos 8 dias¹⁶. Contudo, estas técnicas de perfusão *in vitro*, não se têm difundido na prática, como se poderia imaginar. Os meios laboratoriais que exigem, muito laboriosos e dispendiosos, são incompatíveis com a explosão em cadeia que têm tido as transplantações humanas de órgãos. Por outro lado, os vários modelos propostos não são isentos de inconvenientes, nomeadamente no que se refere à indução de lesões vasculares mais intensas do que as observadas nos modelos mais simples de *flush preservation*¹⁷.

2) Na prática o grande campo de avanço e desenvolvimento, tem surgido na área dos solutos de conservação de órgãos. A constituição destes solutos tem evoluído em con-

sonância com o alargamento e modificação dos conhecimentos relativos aos princípios básicos da conservação pelo frio e da preservação de órgãos, resumidos anteriormente.

No momento presente, podemos considerar que o designado Wisconsin (UW), proposto por BELZER^{2,5,10}, é a solução de preservação de órgãos paradigmática. Ela foi constituída para responder a uma série de requisitos considerados muito importantes na conservação do órgão a transplantar. Fundamentalmente, este soluto contém substâncias que previnem: 1) A dilatação celular induzida pela hipertermia (por acção da Rafinose e Lactobionato), 2) A acidade intracelular (pH no sentido alcalino), 3) A expansão extracelular (hidroxil amido), 4) As lesões por libertação de radicais livres (Alopurinol e glutatião) e 5) Fornece uma certa quantidade de substracto necessário à regeneração dos compostos fosfato de alta energia durante a perfusão (adenosina). De todos estes elementos, talvez tenha sido a introdução da associação Rafinose-lactobionato a modificação mais fundamental, pelo facto de ter permitido constituir um soluto verdadeiramente eficaz na prevenção do edema intracelular. A glucose utilizada no EC, que o UW se propõe substituir, não exerce aquele efeito anti-hidratante ao nível da célula hepática, e é de admitir que tenha outros inconvenientes no modelo anóxico de conservação utilizado — nomeadamente o de favorecer a produção indesejada de ácido láctico e iões H^{+5} . A estas razões provavelmente deve o UW a sua maior capacidade de preservação e o de ter transformado a Transplantação de órgãos de uma operação de emergência num processo semi-electivo.

O grande inconveniente da solução de Belzer reside no facto de não ser fácil de preparar, e de ser muito mais dispendiosa do que o EC (cerca de 6 vezes mais). Este defeito não existe na solução de Sacarose Tamponada com Fosfato analisada neste estudo e que pode ser facilmente obtida na farmácia do próprio Hospital.

O efeito impermeabilizante desta nova solução, anteriormente testada no rim³, demonstra-se agora que também se exerce ao nível do fígado. A perda de 6% do peso obtida com a conservação em STF ao fim de 24 h de isquemia fria, contrasta com o ganho de +17% do EuroCollins, e não é muito diferente dos -10 a -15% de diminuição de peso descrito para o UW¹⁸ para um período de conservação idêntico ao nosso.

A técnica da perfusão hepática *in vitro*, usando um circuito fechado, tem sido considerada muito útil na avaliação das lesões produzidas pelos vários métodos de conservação¹⁹. Neste modelo, a quantificação do fluxo biliar é certamente o parâmetro que melhor discrimina as diferenças entre os vários tipos de preservação e segundo alguns autores, o volume final de biliar é o factor que melhor se correlaciona com a rapidez de recuperação do órgão transplantado^{17,20,21}. A interpretação dos nossos resultados, de acordo com este conceito, leva-nos à conclusão de que a STF é francamente superior à solução de EC e é provável que a sua eficácia se aproxime da do UW. Por exemplo, recentemente Sundberg et al¹⁷, usando um modelo *in vitro* semelhante ao nosso, encontra no rato uma diferença no débito de biliar entre o EC e o UW, muito próxima da obtida por nós entre o EC e a STF para o fígado de cão.

Em reforço desta mesma interpretação, jogam os dados obtidos no estudo histológico. Embora as lesões microscópicas sejam mínimas em todos os modelos após 24 h de isquemia fria, é na preparação em STF que se encontram as menores alterações.

Face aos elementos anteriores, têm provavelmente menor importância os dados coleccionados em relação aos doseamentos iónicos e de outros parâmetros de função hepática. Parece-nos no entanto de interesse valorizar os seguintes aspectos deste estudo comparativo:

1) É de admitir que a composição intracelular de Na e K do EC, não tenha um grande valor na preservação iónica da célula hepática durante a isquemia fria, desde que se iniba a hidratação celular. Após 24 h, os níveis mais elevados de K, foram detectados no modelo com EC, o que é compreensível, mas durante o período de reperfusão quente, continua a ser neste mesmo modelo que se encontra a mais intensa e continuada exspolição de K para fora do hepatócito. Esta interpretação naturalmente que terá de ser confirmada por determinações intracelulares e intercompartimentais do K. Comparativamente no mesmo período, o modelo com STF é aquele que mostra em paralelo com uma maior estabilização do peso e menores alterações histológicas, menores níveis de depleção deste ião, o que poderá ser muito vantajoso na fase crítica imediata à transplantação in vivo.

2) A tendência para hiperglicemia durante a fase anhepática da transplantação ortotópica e durante a reperfusão, tem sido descrita no homem^{22,23} e relacionada com uma provável confluência de múltiplos factores, anestésicos, farmacológicos, cirúrgicos e também hepáticos. É de admitir que no modelo de recirculação utilizado (não carregado com solutos contendo glucose) e em que é possível excluir a influência de factores extra-hepáticos, se possa considerar a elevação da glucose como um índice de menor trauma metabólico e de maior capacidade de mobilização das reservas de glicogénio pelo hepatócito. Se assim for, então os níveis elevados de glucose observados mais intensa e precocemente no modelo com STF, em contraste com a resposta mais tardia, da preparação com EC e com os menores níveis do controle com Lactato de Ringer, provavelmente traduzirão maior eficácia da conservação e uma maior vantagem do efeito anti-hidratante da solução com STF.

3) A ausência de diferenças significativas nos valores sempre elevados da TGO e TGP, quer no fim do período de isquemia fria, quer durante a reperfusão a 37°, entre o EC e STF, talvez signifique um amortecimento de resposta em relação ao importante factor anóxico do modelo utilizado, uma vez que estes enzimas têm sido considerados na clínica como bons índices de prognóstico da viabilidade do fígado transplantado.

Em conclusão, e de acordo com este estudo confirma-se a acção impermeabilizante do STF em relação ao fígado do cão. Tendo em atenção os dados obtidos em relação à boa capacidade de preservação da estrutura histológica do órgão, ao maior volume de reexcreção biliar e o menor efeito exspoliador de potássio, considera-se que a solução simples de Sacarose Tamponada com Fosfato é significativamente melhor do que a solução de EuroCollins na conservação do fígado do cão.

BIBLIOGRAFIA

- JAMIESON N.V.: A new solution for liver preservation. *Br J Surg* 1989; 76: 107-108.
- WAHLBERG J.A., SOUTHARD J.A. e BELZER F.O.: Development of a cold storage solution for pancreas preservation. *Cryobiology* 1988; 23: 477-482.
- LAM F.T., MAVOR A.I.D., POTTS D.J. e GILES G.R.: Improved 72-Hour renal preservation with phosphate buffered sucrose. *Transplantation* 1989; 47: 767-771.
- TODO S., PODESTA L., UEDA Y., IMVENTARZA O., CASAVILLA A., OKS A., OKUDA K., NALESNIK M., VENKATARAMANAN R. e STARZL T.E.: Comparison of UW with other solutions for liver preservation in dogs. *Transplantation* 1989; 3: 253-259.
- BELZER F.O. e SOUTHARD J.H.: Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45: 673-676.
- MacKNIGHT A.D.C. e LEAF A.: Regulation of cellular volume. *Physiol Rev* 1977; 57: 510-515.
- MARTIN D.R., SCOTT D.F., DOWES G.L. e BELZER F.O.: Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system. *Ann Surg* 1972; 175: 111-116.
- REHNCRONA S., SIESJO B.K. e SMITH D.S.: Reversible ischemia of the brain: biochemical factors influencing restitution. *Acta Physiol* 1979 (suppl 492): 135.
- PARKS P.A., BULKELY G.B. e GRANGER D.N.: Role of oxygen free radicals in shock, ischemia, and organ preservation. *Surgery* 1983; 94: 428-434.
- BELZER F.O., HOFFMAN R., HUANG J.: Endothelial damage in perfused dog kidney and cold sensitivity of vascular Na-K-ATPase. *Cryobiology* 1972; 9: 457-460.
- McKEOWN C.M.B., EDWARDS V., PHILLIPS M.J., HARVEY P.R.C., PETRUNKA C.N. e STRASBERG S.M.: Sinusoidal lining cell damage: The critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988; 46: 178-191.
- PEGG D.E., JACOBSEN I.A. e WALTER C.A.: Hypothermic perfusion of rabbit kidneys with solutions containing gelatin polypeptides. *Transplantation* 1977; 24: 29-38.
- HILL G.S., LIGHT J.A. e PERLOFF L.J.: Perfusion related injury in renal transplantation. *Surgery* 1976; 79: 440-447.
- MONDEN M. e FORTNER J.G.: Twenty four and 48-hour canine liver preservation by simple hypothermia with prostacyclin. *Ann Surg* 1982; 196: 38-42.
- MASAKI T., UCHIDA H., OSAKABE T. et al: Successful 96 and 120 hour preservation of the canine kidney by simple surface cooling with high units of urokinase and modified Collins solution. *Transplantation Proc* 1985; 17: 1449-1453.
- COHEN G.L.: Eight-day kidney preservation. *Ch M Thesis, University of Liverpool* 1983. Citado por PEGG D.E. (17).
- PEGG D.E.: Organ preservation. *Surg Cl N Am* 1986; 66: 617-632.
- SUNDBERG R., AR'RAJAR A., AHRÉN B. e BENGMARK S.: Effect of the initial cooling solution on 24-hour liver preservation with UW solution. *Cl Transplantation* 1989; 3: 290-293.
- JAMIESON N.V., LINDELL S., SUNDBERG R. et al: An analysis of the components in UW solution using the isolated perfused rabbit liver. *Transplantation* 1988; 46: 512-514.
- IU S., HARVEY P.R.C., MAKOWKA L., PETRUNKA C.N., ILSON R.G. e STRASBERG S.M.: Markers of allograft viability in the rat. Relationship between transplantation and liver function in the isolated perfused liver. *Transplantation* 1987; 44: 562-566.
- SUMIMOTO K., INAGAKI K., YAWADA K., KAWASAKI T. e DOHI K.: Reliable indices for the determination of viability of grafted liver immediately after orthotopic transplantation. Bile flow rate and cellular adenosine triphosphate level. *Transplantation* 1988; 46: 506-509.
- MALLETT S.V., KANG Y., FREEMAN J.A., AGGARWAL S., GASIOR T. e FORTUNATO F.L.: Prognostic significance of blood glucose levels during liver transplantation (Abstract) *Anesthesiology* 1987 (Suppl A); 67: 313.
- ATCHISON S.R., RETTKE S.R., FROMME G.A., JANOSSY T.A., KUNKEL S.E., WILLIAMSON K.R., PERKINS J.D., RAKELA J: Plasma glucose concentration during liver transplantation. *Mayo Clin Proc* 1989; 64: 241-245.

Pedido de Separatas:
F. Veiga Fernandes
Cirurgia I
Propedêutica Cirúrgica
Faculdade de Medicina de Lisboa
1600 Lisboa