

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas

**Fator V Plasmático como Biomarcador de Disfunção do Enxerto e Preditor de
Perda Precoce de Enxerto após Transplante Hepático**

ANDRE GORGEN NUNES

Orientador: Prof. Dr. Cleber Rosito Pinto Kruehl

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Gorgen Nunes, Andre
Fator V Plasmático como Biomarcador de Disfunção do
Enxerto e Preditor de Perda Precoce de Enxerto após
Transplante Hepático / Andre Gorgen Nunes. -- 2018.
95 f.
Orientador: Cleber Rosito Pinto KrueI.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2018.

1. biomarcador. 2. falência hepática. 3. disfunção
precoce de enxerto. 4. não-função primária do enxerto.
5. sobrevida do enxerto. I. KrueI, Cleber Rosito
Pinto, orient. II. Título.

ANDRE GORGEN NUNES

**Fator V Plasmático como Biomarcador de Disfunção do Enxerto e Preditor de
Perda Precoce de Enxerto após Transplante Hepático**

Orientador: Prof. Dr. Cleber Rosito Pinto Kruel

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, 2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe que nunca poupou esforços para dar-me suporte e confiança durante minha vida. A todos meus professores e que despertaram em mim o interesse pela busca da verdade. Ao Grupo de Transplante Hepático do Hospital de Clínicas de Porto Alegre por proporcionar-me contato com essa bela especialidade desde muito cedo em minha formação.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Cleber Rosito Pinto Kruehl por ter-me aberto as portas da cirurgia hepática. Agradeço a meu amigo e mentor Prof. Dr. Gonzalo Sapisochin por todos ensinamentos, paciência e apoio nesse início da minha jornada na cirurgia hepática.

Especialmente, agradeço à minha futura esposa e meu maior exemplo de médica Dra. Letícia Uzeika por ser minha parceira de todos os momentos e por me apoiar incondicionalmente em minha carreira. Letícia, obrigado por compartilhar comigo a paixão pelo cuidado aos pacientes e ao aprimoramento constante.

RESUMO

Introdução: A disparidade entre o número de candidatos a transplante hepático e de enxertos disponíveis, gera o fenômeno de escassez de enxertos. Para enfrentar esse problema, uma das estratégias possíveis é a expansão dos critérios para aceitação de enxertos. Todavia o uso de enxertos não-ideais aumento o risco de disfunção primária do enxerto (DPE). O diagnostico precoce da DPE pode potencialmente levar a uma mais rápida intervenção. Diversos biomarcadores foram estudados para o diagnóstico da DPE, porem ainda não há um consenso sobre o tema.

Objetivo: Revisar a literatura sobre o tema da disfunção do enxerto e validar o Fator V plasmático no primeiro dia pós-operatório (1ºPO) como um biomarcador de DPE e perda precoce do enxerto após transplante hepático.

Métodos: Análise retrospectiva dos níveis de Fator V no 1ºPO de transplante hepático. Pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com os níveis de Fator V: ≤ 36.1 U/mL e >36.1 U/mL. O desfecho primário foi DPE como definido por Olthoff et al. Preditores dos desfechos foram identificados por regressão logística.

Resultados: 227 pacientes foram incluídos no estudo: 74 com Fator V ≤ 36.1 U/mL e 153 com Fator V >36.1 U/mL. Dentre os pacientes com Fator V ≤ 36.1 U/mL, 41 (55.4%) tiveram DPE, enquanto 20 (13.1%) pacientes com Fator V >36.1 U/mL tiveram DPE, $p < 0.001$. Em um modelo de múltiplas variáveis, Fator V plasmático foi um preditor contínuo de DPE [OR=0.96 (95%CI 0.94-0.98) por U/mL]. Entre os dois grupos em estudo, pacientes com Fator V ≤ 36.1 U/mL tiveram sobrevida do enxerto em 1, 3 e 6 meses de 82%, 74% e 74%, respectivamente, enquanto pacientes com Fator V

>36.1U/mL tiveram sobrevida do enxerto de 98%, 95% e 95%, respectivamente ($p=0.001$). Fator V foi um preditor contínuo para perda do enxerto em 3 e 6 meses [(OR=0.96 (95%CI 0.94-0.99) e OR=0.97 (95%CI 0.94-0.99) per U/mL], enquanto a definição de DPE não foi significativa quanto ajustada para os níveis de Fator V.

Conclusão: Fator V é um biomarcador precoce de EAD e pode ser aplicado de forma contínua como preditor de perda precoce do depois de transplante hepático.

Palavras-chave: biomarcador, falência hepática, disfunção precoce de enxerto, não-função primária do enxerto, sobrevida do enxerto.

ABSTRACT

Background: The imbalance between the number of patients waiting for a liver transplantation and the number of available grafts generates a scarcity of grafts. To face this problem, one possible strategy is to expand the criteria for acceptance of grafts. However, the use of non-ideal grafts increases the risk of early allograft dysfunction (EAD). The early diagnosis of EAD potentially could lead to faster intervention. Several biomarkers have been studied for the diagnosis of EAD, however, there is no consensus on this matter.

Aims: To review the literature on graft dysfunction and to assess Factor V as a biomarker of EAD and a predictor of graft loss after liver transplantation (LT).

Methods: We retrospectively assessed the serum Factor V on postoperative day 1 after LT. Patients were divided according to Factor V level: ≤ 36.1 U/mL and >36.1 U/mL. The primary outcome was graft loss within 1-, 3- and 6-months. The secondary outcome was EAD as defined by Olthoff et al. Predictors of outcomes were identified by multivariable logistic regression.

Results: 227 patients have been included in the study: 74 with Factor V ≤ 36.1 U/mL and 153 with Factor V >36.1 U/mL. Among the patients with Factor V ≤ 36.1 U/mL, 41 (55.4%) had EAD whereas 20 (13.1%) patients with Factor V >36.1 U/mL had EAD, $p < 0.001$. In a multivariable regression model, Factor V was continuous a predictor for EAD [OR=0.96 (95%CI 0.94-0.98) per U/mL]. Between the study groups, patients with Factor V ≤ 36.1 U/mL had a 1-, 3- and 6-months graft-survival of 82%, 74% and 74% whereas patients with Factor V >36.1 U/mL had 98%, 95% and 95%, respectively ($p=0.001$). Factor

V was a continuous predictor for 3- and 6-month graft loss [(OR=0.96 (95%CI 0.94-0.99) and OR=0.97 (95%CI 0.94-0.99) per U/mL] whereas EAD was not significant when adjusted for Factor V.

Conclusion: Factor V is an early biomarker for EAD and is continuous predictor of short-term graft loss and after LT. Factor V is a promisor biomarker for short-term outcomes after LT.

Keywords: Biomarker, liver failure, early allograft dysfunction, primary non-function, graft-survival

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Correlação da disfunção do enxerto com seus diversos fatores causais.....	18
Figura 2 – Curva <i>receiver operating characteristics</i> do Fator V como preditor de perda do enxerto em 6 meses.....	41
Figura 3 – Sobrevida do enxerto entre pacientes com Fator V $\leq 36.1\text{U/mL}$ e $>36.1\text{U/mL}$	48
Figura 4 – Sobrevida global entre pacientes com Fator V $\leq 36.1\text{U/mL}$ e $>36.1\text{U/m}$	49
Figura 5 – Incidência de disfunção precoce do enxerto e perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses entre pacientes com diferentes extratos de Fator V.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Definições de disfunção do enxerto.....	19
Tabela 2 – Características basais dos pacientes em estudo.....	44
Tabela 3 – Regressão logística univariável e multivariável para preditores de disfunção precoce do enxerto após transplante hepático.....	46
Tabela 4 – Regressão logística univariável para preditores de perda do enxerto após transplante hepático.....	50
Tabela 5 – Regressão logística multivariável para preditores de perda do enxerto após transplante hepático.....	52

LISTA DE FIGURAS EM INGLÊS

Figure 1 – Receiver operating characteristics curve of Factor V as a predictor for 6-month graft loss.....	71
Figure 2 – Graft-survival between patients with Factor V level ≤ 36.1 U/mL and >36.1 U/mL.....	78
Figure 3 – Overall survival between patients with Factor V level ≤ 36.1 U/mL and >36.1 U/mL.....	79
Figure 4 – Incidence of early allograft dysfunction, 1-, 3- and 6-month graft loss among serum Factor V strata.....	84

LISTA DE TABELAS EM INGLÊS

Table 1 – Baseline characteristics of patients in study.....	73
Table 2 – Univariable and multivariable logistic regression for predictors for early allograft dysfunction after LT.....	76
Table 3 – Univariable logistic regression model to predict graft loss after liver transplantation.....	80
Table 4 – Multivariable logistic regression model to predict graft loss after liver transplantation.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT: Alanina aminotransferase

AST: Aspartato transaminase

AUC: Área abaixo da curva

DPE: Disfunção precoce do enxerto

IMC: Índice de massa corporal

IRA: Injúria renal aguda

LiMax: *liver maximal function capacity*

MEAF: *modelo for early allograft function*

PO: Dia pós-operatório

ROC: Curva *receiver operating characteristics*

RC: Razão de chances

THA: Trombose artéria hepática

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISAO DA LITERATURA.....	18
2.1. Disfunção do enxerto.....	18
2.2. Outros preditores de disfunção do enxerto.....	22
2.3. Fator V.....	23
2.4. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA.....	25
3. OBJETIVOS.	32
3.1. Objetivo geral.....	32
3.2. Objetivos específicos.	32
4. ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUES.	33
4.1. Resumo.....	34
4.2. Introdução.....	36
4.3. Métodos.....	37
4.4. Resultados.....	43
4.5. Discussão.....	53
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
5. ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS.....	64
5.1. Abstract.....	65
5.2. Introduction.....	66
5.3. Methods.....	67
5.4. Results.....	72

5.5. Discussion.....	83
5.6. References.....	89
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94

1 INTRODUÇÃO

Transplante hepático é um tratamento mundialmente reconhecido para doença hepática terminal e, em casos selecionados, para carcinoma hepatocelular e outras neoplasias hepáticas.¹ O primeiro transplante hepático foi realizado por Thomas Starzl, em 1967.² Desde então, no mundo todo, o transplante hepático tem evoluído continuamente e até então mais de 80.000 pacientes já receberam transplantes hepáticos.³ As taxas de sobrevida vêm aumentando significativamente nos últimos 25 anos, atingindo 96% e 71% in 1 e 10 anos, respectivamente.⁴ Esse grande sucesso relacionado ao transplante hepático deve-se a vários avanços como novos imunossuppressores, soluções de preservação, melhorias na técnica cirúrgica e identificação precoce de complicações.⁵

No Brasil, o primeiro transplante hepático foi realizado em 1968.⁶ Em 2017, foram realizados 2.109 transplantes hepáticos, colocando o país na segunda colocação mundial em número absoluto de transplantes de fígado.⁷ Entretanto, no mesmo ano, 2.829 pacientes ingressaram na lista de espera por um transplante hepático no Brasil.⁷ Essa disparidade entre o número de candidatos e de enxertos disponíveis, gera o fenômeno de escassez de enxertos hepáticos.

Para enfrentar a escassez de enxertos, uma das possibilidades é aumentar o número de enxertos disponíveis. Para esse fim, os critérios de aceitação de enxertos hepáticos são constantemente colocados à prova. O uso de enxertos outrora rejeitados

como os de provenientes de doadores mais velhos, fígados gordurosos, doações após morte cardíaca e enxertos bipartidos já são uma realidade em muitos centros.⁸⁻¹⁰

Por outro lado, o uso de enxertos “não-ideais” pode estar relacionado a um aumento no risco de disfunção do enxerto no pós-operatório.¹¹ A disfunção precoce do enxerto (DPE) esta relacionada a piores sobrevidas do enxerto e do receptor após transplante hepático. Esse balanço entre aumentar o número de enxertos disponíveis controlando as potenciais complicações de enxertos marginais é difícil de ser encontrado.

Hoje, há uma ausência de um marcador ou teste diagnóstico que possa definir a DPE com precisão. Diversos conceitos e marcadores foram propostos até o momento. Um biomarcador utilizado em hepatologia é o Fator de coagulação numero V. O uso do Fator V plasmático é consagrado na insuficiência hepática aguda. Todavia seu uso no pós-operatório do transplante hepático é limitado. Portanto, o objetivo desse estudo é investigar o potencial do Fator V plasmático como ferramenta na avaliação de pacientes após transplante hepático.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Disfunção do enxerto

Disfunção do enxerto é associada com piora da sobrevida do enxerto e do receptor.¹² Independentemente da definição de DPE adotada, a prevalência da DPE é descrita entre 9 e 25%.^{13,14} DPE também está associada com internação hospitalar prolongada (muitas vezes em unidade de terapia intensiva), uso de exames laboratoriais e de imagem, impactando pesadamente nos custos do atendimento ao receptor de transplante hepático.^{13,15,16} A DPE é uma entidade dependente de fatores relacionados ao doador, ao próprio enxerto, à técnica cirúrgica e ao receptor (Figura 1). Esse complexo arranjo de variáveis torna a definição de DPE causa de debate na transplantologia.

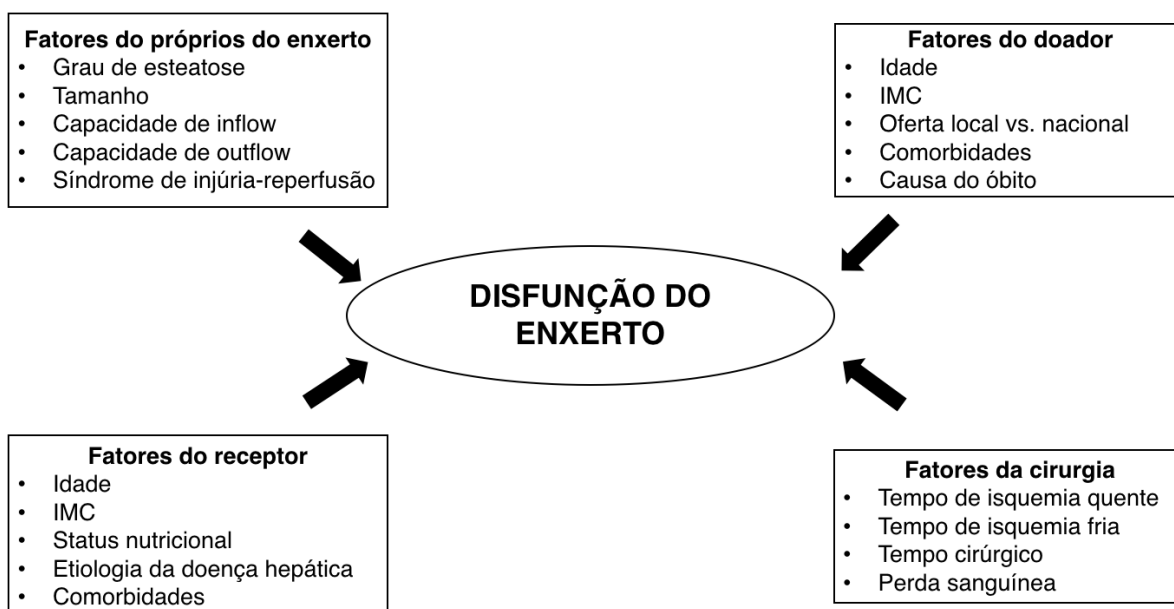


Figura 1: Esquema demonstrando o impacto dos diversos fatores relacionados à disfunção do enxerto.

Até o presente momento, o conceito de disfunção do enxerto após transplante hepático não é universal, e várias definições e critérios para disfunção do enxerto foram propostos. Comumente, diversos termos são aplicados como referência ao enxerto que, logo após implantado, apresenta uma função pobre.¹² Além de DPE, outras definições aplicadas na literatura do tema são “função inicial pobre” e “não-função primária”.

Função inicial pobre é um termo geral que engloba todas os casos em que o enxerto não apresenta função ideal após o transplante. Não-função primária é, em geral, um termo aplicado para a necessidade de re-transplante ou morte devido à incapacidade do enxerto de manter as funções vitais do receptor no pós-operatório imediato do transplante. Diversas são os critérios publicados com definições de função inicial pobre. A Tabela 1 apresenta esses critérios. Apesar de divergirem sobre as definições, os autores concordam que função inicial pobre impacta nos desfechos após transplante hepático.¹²

Tabela 1: Definições de função inicial pobre e não-função primária		
Estudo	Função inicial pobre	Não-função primária
Broering et al. ¹⁷	ALT ou AST ou glutamato desidrogenase > 2000 U/L Uso de plasma por mais de 5 dias	Enxerto que não seja capaz de manter as funções vitais ou óbito do receptor até o 10ºPO
Nanashima et al. ¹⁸	Duas medidas consecutivas de AST ou AST > 1500U/L até o 3ºPO	Necessidade de re-transplante ou morte do receptor até o 3ºPO
Heise et al. ¹⁹	Escore envolvendo ALT, AST, fluxo de bile, INR até o 14ºPO	-

Tekin et al. ²⁰	AST > 1500U/L e tempo de protrombina > 20s no 7ºPO	Necessidade de re-transplante ou morte do receptor até o 7ºPO
Ben-Ari et al. ²¹	AST ou ALT > 2000U/L no 2ºPO ou INR > 1.6 do 2º ao 10ºPO	-
Kremers et al. ²²	-	ALT > 2500 U/L e glicose < 60mg/dL e INR > 2.5
Pokorny et al. ²³	AST > 2500U/L ou necessidade de hemoderivados por mais de dois dias.	Necessidade de re-transplante ou morte do receptor até o 7ºPO
Monbaliu et al. ²⁴	-	Encefalopatia persistente e acidose refratária e hipoglicemia e coagulopatia graves, baixa produção de bile e aumento de AST.
Cieslak et al. ²⁵	AST ou ALT > 2500 U/L ou aumento INR > 50% do 1º ao 7ºPO	-
Dhilon et al. ²⁶	[(AST+ALT)/2] no 2ºPO, diagnóstico se >986	Necessidade de re-transplante ou morte do receptor até o 7ºPO
Nemes et al. ²⁷	Se [bilirrubina total / INR] > 1 no 5ºPO	-
Olthoff et al. ²⁸	Bilirrubina total ≥ 10mg/dL no 7ºPO ou INR ≥ 1.6 no 7ºPO ou AST ou ALT > 2000U/L do 1º ao 7ºPO	-
Stockmann et al. ²⁹ e Lock et al. ³⁰	Duas leituras de LiMax durante o 1ºPO = 60-120µg/kg por hora	Duas leituras de LiMax durante o 1ºPO < 60µg/kg por hora
Mathe et al. ³¹	Duas medidas consecutivas de ASP ou ALT > 1500U/L até o 3ºPO	Necessidade de re-transplante ou morte do receptor até o 3ºPO
Abreviações: AST: Aspartato transaminases; ALT: Alanina aminotransferase; LiMax: <i>liver maximal function capacity</i> ; PO: dia pós-operatório.		

Em meio a todas as definições de função inadequada do enxerto, o mais aceito é o conceito de Olthoff et al.²⁸ De acordo com essa definição, DPE estaria presente em casos em que as transaminases forem maiores que 2000 U/L dentro da primeira semana pós-operatória ou a bilirrubina total for maior que 10 mg/mL ou o INR for maior que 1,6 no 7ºPO. De acordo com essa definição, pacientes com diagnóstico de DPE tem um risco relativo de morte de 10.7 (IC 95% 3.6 – 31.9).

Duas das maiores limitações do conceito de DPE cunhado por Olthoff et al. é sua natureza dicotômica, tornando impossível identificar a variância de risco que existe entre diferentes pacientes com DPE, e o fato de alguns pacientes serem diagnosticados tardiamente. Tentando melhorar a identificação de pacientes em maior risco de DPE, Pereja et al criaram o “*model for early allograft function (MEAF) score*”.³² O escore MEAF é um escore contínuo baseado em níveis de transaminases, INR e bilirrubina total do 1º ao 3ºPO e bilirrubina total no 3ºPO. Sendo escore contínuo, o aumento de uma unidade de MEAF score representa um aumento no risco de morte em 3 meses de 2.66 vezes (IC 95% 2.06 – 3.44). Além da característica continua, outras vantagens do MEAF escorem são sua rápida aplicabilidade e ser capaz de prever a disfunção do enxerto antes do conceito de DPE. Entretanto, por ser baseado nas mesmas variáveis laboratoriais, o MEAF score, ao menos em teoria, tem capacidade limitada de adicionar informações novas quando comparado à definição de Olthoff. Recentemente Jochmans et al. demonstraram que o MEAF score se sobrepõe à capacidade preditiva de mortalidade pós-transplante sobre o conceito de DPE.³³

2.2 Outros preditores de disfunção do enxerto

Diversos estudos têm sido desenvolvidos para identificar novos preditores de disfunção do enxerto. O verde de indocianina é largamente utilizado na avaliação da função hepática, principalmente no pré-operatório de hepatectomia.³⁴ No cenário do pós-operatório de transplante hepático, a capacidade de excreção do verde de indocianina pela via biliar pode ser medida como parte da avaliação da função do enxerto. Olmedilla et al. desenvolveram um escore para prever mortalidade em um mês pós-transplante baseado na taxa de excreção do verde de indocianina (2 pontos se $<10\%$) e no valor do INR (2 pontos se ≥ 2.2).³⁵ O critério de Olmedilla et al tem 95% de sensibilidade e 94% de valor preditivo negativo para pacientes com score igual a 3 ou mais. Uma importante limitação do uso da capacidade de excreção do verde de indocianina após transplante hepático é a sua dependência do adequado fluxo arterial do enxerto. Portanto, a medida do teste pode ser falsamente prejudicada pela trombose de artéria hepática ou instabilidade hemodinâmica.^{36,37}

O teste da capacidade máxima hepática [*liver maximal function capacity (LiMax)*] é um teste de hálito que mede a capacidade do fígado de metabolizar a metacentina de carbono 13. A metacentina de carbono 13 é administrada intravenosamente, metabolizada pelo citocromo P450 e seu metabolito é excretado pela via aérea. Um teste quantitativo foi desenvolvido para determinar DPE aplicando LiMax. Segundo Stockmann et al. valores entre 60 e 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por hora estão associados a função hepática

prejudicada, enquanto valores menores que 60 µg/kg estão associados à não função do enxerto. Até o presente momento a maior limitação do LiMax é o fato da técnica ter sido desenvolvida e validada em um único centro; carecendo, portanto, de validade externa.

O lactato é metabolizado pelo fígado e, então, baixas taxas de conversão de lactato estariam associadas a piora da função do enxerto após transplante hepático. A taxa de conversão de lactato, medida pela razão entre dois níveis de lactato em diferentes momentos, já é associada a mortalidade de pacientes internados em unidades de terapia intensiva.³⁸ Wu et al. avaliaram o impacto da taxa de conversão do lactato como preditor de DPE.³⁹ Nesse interessante estudo, os níveis absolutos de lactato não impactaram no desfecho, porém a taxa de conversão (*clearance*) do lactato foi altamente preditivo de DPE. A acurácia foi de 96.1% com um ponto de corte de 24.8% de taxa de conversão de lactato. Pacientes com taxa de conversão de lactato abaixo de 28.8% por hora tiveram uma razão de chances de 169.0 (IC 95% 52.5 – 544.1) para desenvolver DPE.

2.3 Fator V

A literatura sobre o uso do Fator V na avaliação da função hepática é muito escassa. Os primeiros estudos correlacionando Fator V com a função hepática foram realizados a partir da década de 1970 em pacientes com insuficiência hepática aguda.⁴⁰⁻
⁴² Atualmente, os níveis plasmáticos de Fator V fazem parte dos critérios para o diagnóstico de insuficiência hepática aguda.⁴³⁻⁴⁵

Fator V é um cofator do complexo de protrombinase, que ativa protrombina em trombina e interage com diversos fatores da cascata de coagulação.⁴⁶ Fator V é primariamente produzido pelo fígado e 80% do Fator V circula livremente no plasma.⁴⁷ Sua meia-vida é curta (12 – 36 horas) e sua produção é independente da vitamina K. Essas características singulares do Fator V tornam os níveis de Fator V plasmático dependentes da função hepática. Doyle et al. e Stock et al. demonstraram que o Fator V plasmático está relacionado à perda do enxerto.^{48,49} No estudo de Stock et al. níveis de Fator V plasmático menores que 50U/mL estiveram relacionados à piora da sobrevida após transplante. Doyle et al. demonstraram que Fator V no 2ºPO tem uma acurácia de 67% para prever perda do enxerto. Em um estudo prévio, Zulian et al. correlacionaram os níveis de Fator V à falência primária do enxerto.⁵⁰ Nesse estudo, níveis de Fator V menores que 41.5U/L foram relacionados com um risco de perda do enxerto em 3 meses [risco relativo 5.3 (IC 95% 1.4 – 20.2)].

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):e11-22.
2. Starzl TE, Marchioro TL, Porter KA, Brettschneider L. Homotransplantation of the liver. *Transplantation.* 1967;5(4):Suppl:790-803.
3. easloffice@easloffice.eu EAftSotLEa. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *J Hepatol.* 2016;64(2):433-485.
4. Adam R, Karam V, Delvart V, et al. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). *J Hepatol.* 2012;57(3):675-688.
5. Dutkowski P, De Rougemont O, Müllhaupt B, Clavien PA. Current and future trends in liver transplantation in Europe. *Gastroenterology.* 2010;138(3):802-809.e801-804.
6. Pacheco L. Liver transplantation in Brazil. *Rev Col Bras Cir.* 2016;43(4):223-224.
7. Órgãos ABdTd. 2017 Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em Cada Estado. <http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2017/rbt-imprensa-leitura-compressed.pdf>. Published 2018. Accessed 6 de novembro de 2018.
8. Emre S, Schwartz ME, Altaca G, et al. Safe use of hepatic allografts from donors older than 70 years. *Transplantation.* 1996;62(1):62-65.
9. McCormack L, Dutkowski P, El-Badry AM, Clavien PA. Liver transplantation using fatty livers: always feasible? *J Hepatol.* 2011;54(5):1055-1062.

10. Mateo R, Cho Y, Singh G, et al. Risk factors for graft survival after liver transplantation from donation after cardiac death donors: an analysis of OPTN/UNOS data. *Am J Transplant.* 2006;6(4):791-796.
11. Lee DD, Singh A, Burns JM, Perry DK, Nguyen JH, Taner CB. Early allograft dysfunction in liver transplantation with donation after cardiac death donors results in inferior survival. *Liver Transpl.* 2014;20(12):1447-1453.
12. Bolondi G, Mocchegiani F, Montalti R, Nicolini D, Vivarelli M, De Pietri L. Predictive factors of short term outcome after liver transplantation: A review. *World J Gastroenterol.* 2016;22(26):5936-5949.
13. Kaltenborn A, Hartmann C, Salinas R, et al. Risk factors for short- and long-term mortality in liver transplant recipients with MELD score ≥ 30 . *Ann Transplant.* 2015;20:59-69.
14. Sirivatanauksorn Y, Taweerutchana V, Limsrichamrern S, et al. Recipient and perioperative risk factors associated with liver transplant graft outcomes. *Transplant Proc.* 2012;44(2):505-508.
15. Lock JF, Reinhold T, Malinowski M, Pratschke J, Neuhaus P, Stockmann M. The costs of postoperative liver failure and the economic impact of liver function capacity after extended liver resection--a single-center experience. *Langenbecks Arch Surg.* 2009;394(6):1047-1056.
16. Foxton MR, Al-Freah MA, Portal AJ, et al. Increased model for end-stage liver disease score at the time of liver transplant results in prolonged hospitalization and overall intensive care unit costs. *Liver Transpl.* 2010;16(5):668-677.

17. Broering DC, Topp S, Schaefer U, et al. Split liver transplantation and risk to the adult recipient: analysis using matched pairs. *J Am Coll Surg.* 2002;195(5):648-657.
18. Nanashima A, Pillay P, Verran DJ, et al. Analysis of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation: experience of an Australian single liver transplantation center. *Transplant Proc.* 2002;34(4):1231-1235.
19. Heise M, Settmacher U, Pfitzmann R, et al. A survival-based scoring-system for initial graft function following orthotopic liver transplantation. *Transpl Int.* 2003;16(11):794-800.
20. Tekin K, Imber CJ, Atli M, et al. A simple scoring system to evaluate the effects of cold ischemia on marginal liver donors. *Transplantation.* 2004;77(3):411-416.
21. Ben-Ari Z, Weiss-Schmilovitz H, Sulkes J, et al. Serum cholestasis markers as predictors of early outcome after liver transplantation. *Clin Transplant.* 2004;18(2):130-136.
22. Kremers WK, van IJperen M, Kim WR, et al. MELD score as a predictor of pretransplant and posttransplant survival in OPTN/UNOS status 1 patients. *Hepatology.* 2004;39(3):764-769.
23. Pokorny H, Langer F, Herkner H, et al. Influence of cumulative number of marginal donor criteria on primary organ dysfunction in liver recipients. *Clin Transplant.* 2005;19(4):532-536.
24. Monbaliu D, Libbrecht L, De Vos R, et al. The extent of vacuolation in non-heart-beating porcine donor liver grafts prior to transplantation predicts their viability. *Liver Transpl.* 2008;14(9):1256-1265.

25. Cieślak B, Lewandowski Z, Urban M, Ziarkiewicz-Wróblewska B, Krawczyk M. Microvesicular liver graft steatosis as a risk factor of initial poor function in relation to suboptimal donor parameters. *Transplant Proc.* 2009;41(8):2985-2988.
26. Dhillon N, Walsh L, Krüger B, et al. A single nucleotide polymorphism of Toll-like receptor 4 identifies the risk of developing graft failure after liver transplantation. *J Hepatol.* 2010;53(1):67-72.
27. Nemes B, Gelley F, Zádori G, et al. Outcome of liver transplantation based on donor graft quality and recipient status. *Transplant Proc.* 2010;42(6):2327-2330.
28. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl.* 2010;16(8):943-949.
29. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, et al. How to define initial poor graft function after liver transplantation? - a new functional definition by the LiMAx test. *Transpl Int.* 2010;23(10):1023-1032.
30. Lock JF, Malinowski M, Schwabauer E, et al. Initial liver graft function is a reliable predictor of tacrolimus trough levels during the first post-transplant week. *Clin Transplant.* 2011;25(3):436-443.
31. Máthé Z, Paul A, Molmenti EP, et al. Liver transplantation with donors over the expected lifespan in the model for end-staged liver disease era: is Mother Nature punishing us? *Liver Int.* 2011;31(7):1054-1061.
32. Pareja E, Cortes M, Hervás D, et al. A score model for the continuous grading of early allograft dysfunction severity. *Liver Transpl.* 2015;21(1):38-46.

33. Jochmans I, Fieuws S, Monbaliu D, Pirenne J. "Model for Early Allograft Function" Outperforms "Early Allograft Dysfunction" as a Predictor of Transplant Survival. *Transplantation*. 2017;101(8):e258-e264.
34. Burns E, Triger DR, Tucker GT, Bax ND. Indocyanine green elimination in patients with liver disease and in normal subjects. *Clin Sci (Lond)*. 1991;80(2):155-160.
35. Olmedilla L, Lisbona CJ, Pérez-Peña JM, et al. Early Measurement of Indocyanine Green Clearance Accurately Predicts Short-Term Outcomes After Liver Transplantation. *Transplantation*. 2016;100(3):613-620.
36. Vos JJ, Wietasch JK, Absalom AR, Hendriks HG, Scheeren TW. Green light for liver function monitoring using indocyanine green? An overview of current clinical applications. *Anaesthesia*. 2014;69(12):1364-1376.
37. Janssen MW, Druckrey-Fiskaaen KT, Omid L, et al. Indocyanine green R15 ratio depends directly on liver perfusion flow rate. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2010;17(2):180-185.
38. Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, et al. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2004;32(8):1637-1642.
39. Wu JF, Wu RY, Chen J, Ou-Yang B, Chen MY, Guan XD. Early lactate clearance as a reliable predictor of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2011;10(6):587-592.
40. Gazzard BG, Henderson JM, Williams R. Factor VII levels as a guide to prognosis in fulminant hepatic failure. *Gut*. 1976;17(7):489-491.

41. Bernuau J, Goudeau A, Poynard T, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology*. 1986;6(4):648-651.
42. Izumi S, Langley PG, Wendon J, et al. Coagulation factor V levels as a prognostic indicator in fulminant hepatic failure. *Hepatology*. 1996;23(6):1507-1511.
43. Pereira LM, Langley PG, Hayllar KM, Tredger JM, Williams R. Coagulation factor V and VIII/V ratio as predictors of outcome in paracetamol induced fulminant hepatic failure: relation to other prognostic indicators. *Gut*. 1992;33(1):98-102.
44. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*. 1989;97(2):439-445.
45. Pauwels A, Mostefa-Kara N, Florent C, Lévy VG. Emergency liver transplantation for acute liver failure. Evaluation of London and Clichy criteria. *J Hepatol*. 1993;17(1):124-127.
46. Huang JN, Koerper MA. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia*. 2008;14(6):1164-1169.
47. Camire RM. A new look at blood coagulation factor V. *Curr Opin Hematol*. 2011;18(5):338-342.
48. Doyle HR, Marino IR, Jabbour N, et al. Early death or retransplantation in adults after orthotopic liver transplantation. Can outcome be predicted? *Transplantation*. 1994;57(7):1028-1036.
49. Stock PG, Estrin JA, Fryd DS, et al. Factors influencing early survival after liver transplantation. *Am J Surg*. 1989;157(2):215-219.

50. Zulian MC, Chedid MF, Chedid AD, et al. Low serum factor V level: early predictor of allograft failure and death following liver transplantation. *Langenbecks Arch Surg.* 2015;400(5):589-597.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o papel prognóstico dos níveis plasmáticos de Fator V no pós-operatório imediato de transplante hepático.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Avaliar os níveis plasmático de Fator V como preditores de DPE, comparando-o com uma definição previamente validada de DPE.

3.2.2 Avaliar os níveis plasmático de Fator V como preditor de sobrevida do enxerto em 1, 3 e 6 meses após transplante hepático.

4 ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS

Fator V Plasmático Trata-se de um Biomarcador Contínuo de Disfunção do Enxerto e é um Preditor de Perda do Enxerto após Transplante Hepático

Andre Gorgen^{1,3}, Carolina Prediger², João E Prediger², Marcio F Chedid^{1,2}, Ariane N Backes², Alexandre de Araujo², Tomaz JM Grezzana-Filho², Ian Leipnitz², Aljamir D. Chedid², Mario R Alvares-da-Silva², Gonzalo Sapisochin³, Cleber RP Kruel^{1,2}

Afiliações:

1. Programa de Pós-graduação em Ciências Cirúrgicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
2. Programa de Transplante Hepático do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.
3. Programa de Transplante de Múltiplos Órgãos do Departamento de Cirurgia da Universidade de Toronto, Toronto, Canada.

4.1 Resumo

Introdução: Fator V nunca foi validado como um marcador de disfunção precoce do enxerto (DPE).

Objetivo: Validar o Fator V plasmático no primeiro dia pós-operatório (1ºPO) como um biomarcador de DPE e perda precoce do enxerto após transplante hepático.

Métodos: Análise retrospectiva dos níveis de Fator V no 1ºPO de transplante hepático.

Pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com os níveis de Fator V: ≤ 36.1 U/mL e > 36.1 U/mL. O desfecho primário foi DPE como definido por Olthoff et al. Preditores dos desfechos foram identificados por regressão logística.

Resultados: 227 pacientes foram incluídos no estudo: 74 com Fator V ≤ 36.1 U/mL e 153 com Fator V > 36.1 U/mL. Dentre os pacientes com Fator V ≤ 36.1 U/mL, 41 (55.4%) tiveram DPE, enquanto 20 (13.1%) pacientes com Fator V > 36.1 U/mL tiveram DPE, $p < 0.001$. Em um modelo de múltiplas variáveis, Fator V plasmático foi um preditor contínuo de DPE [OR=0.96 (95%CI 0.94-0.98) por U/mL]. Entre os dois grupos em estudo, pacientes com Fator V ≤ 36.1 U/mL tiveram sobrevida do enxerto em 1, 3 e 6 meses de 82%, 74% e 74%, respectivamente, enquanto pacientes com Fator V > 36.1 U/mL tiveram sobrevida do enxerto de 98%, 95% e 95%, respectivamente ($p=0.001$). Fator V foi um preditor contínuo para perda do enxerto em 3 e 6 meses [(OR=0.96 (95%CI 0.94-0.99) e OR=0.97 (95%CI 0.94-0.99) per U/mL], enquanto a definição de DPE não foi significativa quanto ajustada para os níveis de Fator V.

Conclusão: Fator V é um biomarcador precoce de EAD e pode ser aplicado de forma contínua como preditor de perda precoce do depois de transplante hepático.

Palavras-chave: biomarcador, falência hepática, disfunção precoce de enxerto, não-função primária do enxerto, sobrevida do enxerto.

4.2 Introdução

Transplante hepático é um tratamento mundialmente reconhecido para doença hepática terminal e em casos selecionados, para carcinoma hepatocelular.¹ Infelizmente, há uma disparidade entre o número de pacientes candidatos à transplante hepático e o número de enxertos disponíveis. Essa escassez de enxertos resulta em aumento da mortalidade de pacientes listados para transplante.² Para enfrentar a escassez de enxertos, várias estratégias têm sido desenvolvidas para aumentar o número de enxertos disponíveis.³ O uso de enxertos provenientes de doadores mais velhos (>70 anos), fígados gordurosos, doações após morte cardíaca e enxertos bipartidos já são uma realidade em muitos centros.⁴⁻⁶ Por outro lado, o uso de enxertos “não-ideais” pode estar relacionado a um aumento no risco de disfunção do enxerto no pós-operatório.⁷ Na última década, várias definições de disfunção precoce do enxerto (DPE) foram publicadas.⁸ Em 2010, Olthoff et al. publicaram a definição de DPE que tornou-se a mais aceita mundialmente.⁹ De acordo com essa definição, DPE estaria presente em casos em que as transaminases forem maiores que 2000 U/L dentro da primeira semana pós-operatória ou a bilirrubina total for maior que 10 mg/mL ou a razão normalizada internacional (INR) for maior que 1,6 no sétimo dia pós-operatório (PO). Pacientes que preencham esses critérios têm aumento do risco de mortalidade em 6 meses.⁹ Contudo, uma limitação desse conceito de DPE é sua característica dicotômica. Devido a essa característica, esse conceito de DPE não fornece nenhuma informação adicional sobre o risco de mortalidade entre pacientes com diferentes graus de disfunção do enxerto.^{10,11} Ainda, é sabido que o poder prognóstico de escores binários (ou dicotômicos) é inferior ao dos

escores contínuos.¹² Além disso, em alguns casos, a DPE só poderá ser diagnosticada no 7ºPO. Portanto, esse conceito pode não ser muito útil no contexto clínico de um paciente com função do enxerto prejudicada dentro da primeira semana após transplante hepático. Dessa forma, um biomarcador que possa prever desfechos de curto-prazo mais cedo que a definição corrente de DPE poderá resultar em uma identificação precoce de pacientes de alto risco para perda precoce do enxerto. Um diagnóstico mais precoce poderia resultar em uma intervenção mais precoce e, potencialmente, diminuir a morbidade e a mortalidade relacionada à disfunção precoce do enxerto.

Fator V é um cofator do complexo de protrombinase, que ativa protrombina em trombina e interage com diversos fatores da cascata de coagulação.²⁶ Fator V é primariamente produzido pelo fígado e 80% do Fator V circula livremente no plasma.²⁷ Sua meia-vida é curta (12 – 36 horas) e sua produção é independente da vitamina K; dependente, portanto, diretamente da função hepática. Nós demonstramos previamente que Fator V é relacionado a mortalidade de curto prazo após transplante hepático.¹⁵ Entretanto, Fator V nunca foi comparado a uma definição válida de DPE. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis plasmáticos de Fator V como preditores de DPE e de sobrevida do enxerto após transplante hepático.

4.3 Métodos

4.3.1 Desenho do estudo e população

Este foi um estudo retrospectivo que avaliou pacientes adultos (idade ≥ 18 anos) que foram submetidos a transplante hepático no Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre 1º de março de 2007 e 1º de março de 2017. Pacientes que receberam enxertos de doadores vivos, pacientes que receberam múltiplos órgãos e pacientes com informações incompletas no prontuário foram excluídos. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG nº16-0456). O consentimento informado dos pacientes foi dispensado devido às características retrospectivas do estudo. Esse estudo cumpre com a declaração STROBE para estudos retrospectivos.¹⁶

4.3.2 Coleta de dados e desfechos

Foram coletados dados demográficos dos doadores e dos receptores. Para garantir a acurácia dos dados e minimizar o risco de viés de informação, todos os dados foram revisados independentemente por 3 pesquisadores (AG, CP e JEP). As informações dos receptores foram coletadas do prontuário eletrônico no centro do estudo. As informações dos doadores foram coletadas junto a Central do Transplantes do Estado do Rio Grande do Sul. Dados dos receptores incluíram MELD, plaquetas, creatinina basal, etiologia da doença hepática (categorizada entre viral crônica e outras causas) e se o paciente tinha ou não carcinoma hepatocelular diagnosticado no pré-operatório. Variáveis dos doadores incluíram índice de massa corporal (IMC) e causa da morte. Variáveis da cirurgia incluíram tempo de isquemia quente e fria, tempo cirúrgico e perda sanguínea. O uso de hemoderivados (concentrado de hemácias e plasma fresco)

também foi registrado como variável dicotômica. Os dados laboratoriais dos pacientes durante a primeira semana pós-transplante foram registrados da seguinte forma: alanina transaminase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) diárias, INR e bilirrubina total no 7ºPO. O diagnóstico de injúria renal aguda (IRA) foi definido como aumento maior que 1,5 vezes na creatinina basal dentro das primeiras 48 horas após o transplante. Também foram registradas a ocorrência de trombose de artéria hepática (TAH) dentro da primeira semana pós-operatória. Diagnóstico de HAT foi feito por tomografia computadorizada com contraste ionizado. O desfecho primário do estudo foi perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses. Perda do enxerto foi definida como a necessidade de re-transplante ou morte do paciente. Os desfechos secundários foram a ocorrência de DPE e a sobrevivência global do paciente em 1, 3 e 6 meses. Definimos DPE quando qualquer um dos critérios estivesse presente: ALT ou AST ≥ 2000 U/L durante a primeira semana pós-operatória ou INR $\geq 1,6$ ou bilirrubina total ≥ 10 mg/dL no 7ºPO.⁹

4.3.3 Transplante hepático e cuidados pós-operatórios

Todas as captações de órgãos foram realizadas por cirurgiões certificados pela Central de Transplantes do Estado do Rio Grande do Sul. Todos os transplantes foram ABO compatíveis. A solução de preservação utilizada foi histidina-tryptophan-cetoglutarato até 2011 e solução Instituto Georges Lopez de 2011 em diante. Biópsia do enxerto foi realizada em casos selecionados. Em geral, nós realizamos biópsia do enxerto em casos em que o doador tivesse IMC >30 kg/m² ou se o time de captação considerasse o enxerto macroscopicamente esteatótico. Para enxertos com

macroesteatose, um limite de 60% foi aplicado para aceitação. Todos os transplantes foram realizados pelo mesmo time de cirurgiões (CRPK, ADC, TJMG e IL) utilizando a técnica de “*piggy-back*”. No pós-operatório, todos os pacientes foram manejados pela mesma equipe de cuidados intensivos até o 3ºPO. Dieta enteral foi iniciada no 1ºPO. Ultrassom com Doppler foi realizado diariamente como parte de nossa rotina até o 7ºPO. O uso de concentrados de hemácias e de plasma fresco foi embasado nos resultados da tromboelastografia.¹⁸ Imunossupressão padrão foi realizada com regimes contendo tacrolimus, micofenolato e esteroides. Para pacientes com IRA, indução com bisiliximab foi utilizada.

4.3.4 Fator V

Como uma de nossas rotinas, todos os pacientes tiveram Fator V plasmático dosado no 1ºPO. Utilizamos o primeiro dia pós-operatório como medida devido a meia-vida do Fator V (12 – 36 horas); dessa forma, portanto, os níveis de Fator V entre 24 e 48 horas de pós-operatório devem refletir principalmente o Fator V produzido pelo enxerto ao invés do produzido pelo fígado nativo. O ensaio do Fator V foi realizado por coagulometria e lido por um leitor óptico no aparelho Density Max (Tcoag Stago Group, Bray, Co. Wicklow, Irlanda). O controle de qualidade foi feito em dois níveis com controle nível 1 Trinicheck™ e nível 2 Trinicheck™ Abnormal Control™ (Tcoag Stago Group, Bray, Co. Wicklow, Irlanda). Todos os procedimentos respeitaram guidelines internacionais.¹⁹

4.3.5 Análise estatística

Dados descritivos foram expressos por média e desvio padrão ou mediana e distância interquartis e comparados pelos testes de t de Student ou U de Mann-Whitney quando apropriado. Normalidade foi testada aplicando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Variáveis categóricas foram expressas em proporções e testadas com teste de chi-quadrado com correção de Fisher. Uma curva *receiver operating characteristics* (ROC) foi criada com Fator V como preditor de perda do enxerto em 6 meses e a área embaixo da curva (AUC) foi calculada (Figura 1). A AUC foi 0.78. O ponto de corte ótimo para o Fator V como preditor de perda do enxerto em 6 meses foi de 36.1 U/mL, determinado por índice de Youden.²⁰ Com esse ponto de corte, o Fator V atingiu uma sensibilidade de 73% e uma especificidade de 70% para perda do enxerto em 6 meses.

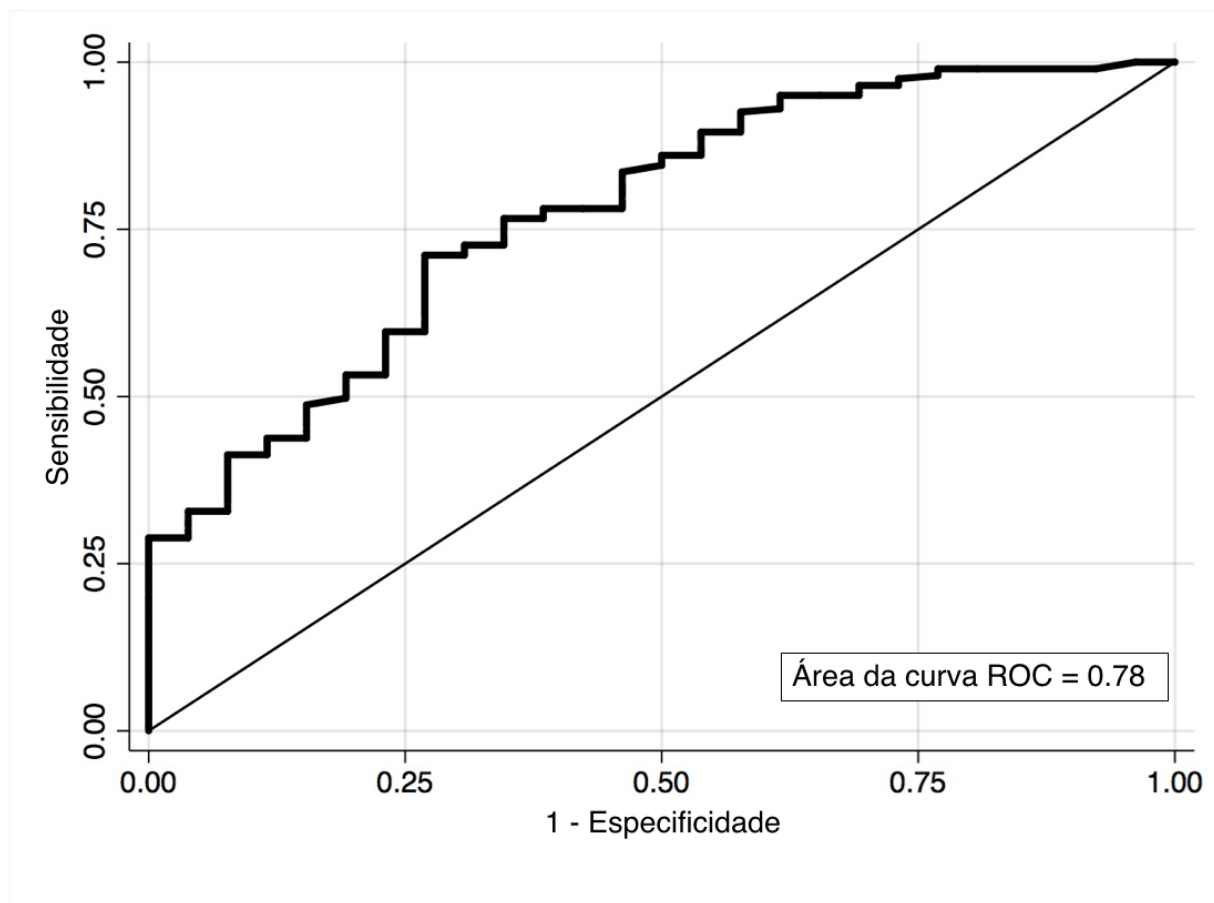


Figura 2 – Curva *receiver operating characteristics* do Fator V como preditor de perda do enxerto em 6 meses

A sobrevida do enxerto e do paciente foram determinadas por curvas de Kaplan-Meier e comparações entre grupos foram feitas pelo teste de log-rank. O tempo de sobrevida foi definido como o tempo entre a definição dos grupos (i.e. o dia da medida do Fator V) e a morte, última visita ambulatorial ou o final do estudo em 31 de dezembro de 2017. Escolhemos o dia da medida do Fator V como dia do início do seguimento dos pacientes ao invés do dia do transplante devido ao fato de os grupos ainda não serem conhecidos no dia do transplante. Isso foi feito para respeitar dos princípios da análise de sobrevida Kaplan-Meier, aumentando a acurácia dos resultados. Portando a

sobrevida do enxerto foi definida como o período entre a definição dos grupos (i.e. 1ºPO) e o re-transplante, morte, última visita ou o final do estudo. Regressão logística univariável e multivariável foram calculadas para identificar preditores de DPE e perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses. Variáveis com $p < 0.10$ na análise univariável foram incluídas no modelo multivariável. O modelo final foi escolhido pela abordagem *stepwise-backward* aplicando um nível de significância de 0.10 para remoção e de 0.05 para inclusão no modelo. Para garantir a comparabilidade entre o Fator V e o conceito de DPE, mantivemos ambas as variáveis em todos os modelos multivariáveis a despeito de seu nível de significância. Os resultados das regressões foram descritos em *odds ratio* (OR) acompanhados de intervalos de confiança (IC) de 95%. Todos os pacientes do estudo foram acompanhados por no mínimo 12 meses, portando diferenças de seguimento não afetaram os resultados da regressão logística. As suposições das regressões logísticas não foram violadas como demonstrado pelo teste de Hosmer-Lemeshow. Um nível de significância de $p < 0.05$ foi considerado como estatisticamente significativo. Todas as análises foram realizadas utilizando o aplicativo STATA 15.0 (Stata Corp. College Station, Texas, USA)

4.4 Resultados

4.4.1 População em estudo

Durante o período do estudo, 247 adultos foram submetidos a transplante hepático no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Entre esses, 20 foram excluídos do

estudo: 2 pacientes receberam enxertos de doadores vivos (transplante domino), 2 receberam múltiplos órgãos (fígado e rim) e 16 pacientes tinham dados incompletos no prontuário. Portanto, a população final do estudo foi composta por 227 pacientes com dados completos. Setenta e quatro foram incluídos no grupo com Fator V \leq 36.1 U/mL e 153 pacientes foram incluídos no grupo com Fator V $>$ 36.1 U/mL. As características basais dos pacientes estão apresentadas na Tabela 2. As características pré-operatórias dos pacientes foram semelhantes entre os grupos. Os pacientes no grupo com Fator V \leq 36.1 tiveram cirurgias mais longas, mais perda sanguínea, mais necessidade de transfusões de concentrado de hemácias e de plasma fresco e maior incidência de IRA. O seguimento médio foi de 29.5 (DIQ 15.1 – 55.0) meses, sem diferenças entre os grupos [Fator V \leq 36.1 U/mL 25.5 (DIQ 6.5 – 66.4) e Fator V $>$ 36.1 U/mL 30.6 (DIQ 16.9 – 52.8), $p = 0.24$]

Tabela 2: Características basais dos pacientes em estudo				
Variáveis	Toda a coorte n = 227	De acordo com níveis de Fator V		
		Fator V \leq 36.1 U/mL n = 74	Fator V $>$ 36.1 U/mL n = 153	p
Características dos receptores				
Sexo, masculino (%)	137 (60.4)	50 (67.6)	87 (56.9)	0.12
Idade, anos [mediana (DIQ)]	57 (50 – 62)	57.0 (48.0 – 61.2)	57.0 (51.0 – 62.0)	0.61
Etiologia da doença hepática (%)				0.10
Hepatite viral	166 (73.1)	49 (66.2)	117 (76.5)	

Outra	61 (26.9)	25 (33.8)	36 (23.5)	
CHC, sim (%)	125 (55.1)	36 (48.6)	89 (58.2)	0.18
MELD [mediana (DIQ)]	13 (10 – 19)	14 (11 – 22)	13 (10 – 18)	0.06
Plaquetas, 10 ³ /μL [mediana (DIQ)]	75 (52 – 105)	73.5 (53.5 – 106.5)	75.0 (51.5 – 105.0)	0.88
Creatinina pré-operatória, mg/dL [mediana (DIQ)]	0.84 (0.69 – 1.16)	0.90 (0.72 – 1.45)	0.82 (0.68 – 1.04)	0.02
Características dos doadores				
Sexo, masculino (%)	134 (51.0)	46 (62.2)	88 (57.5)	0.50
Idade, anos [mediana (DIQ)]	42 (23 – 53)	44.0 (23.0 – 52.7)	40.5 (22.0 – 53.8)	0.90
IMC doador, Kg/m ² [mediana (DIQ)]	24.78 (22.85 – 26.77)	24.4 (22.8 – 26.4)	25.2 (23.1 – 27.3)	0.31
Causa da morte				0.68
Acidente cerebrovascular (%)	118 (52.00)	36 (48.6)	82 (53.6)	
Traumática (%)	89 (39.20)	30 (40.5)	59 (38.6)	
Outro (%)	20 (8.80)	8 (10.8)	12 (7.8)	
Características cirúrgicas				
Tempo cirúrgico, horas, [mediana (DIQ)]	5.5 (4.50 – 6.45)	6.0 (5.2 – 7.3)	5.2 (4.5 – 6.0)	<0.001
Perda sanguínea, 10 ³ mL, [mediana (DIQ)]	2.9 (2.5 – 4.7)	4.5 (2.7 – 5.5)	2.7 (2.0 – 3.5)	<0.001
Tempo de isquemia fria, min [mediana (DIQ)]	445 (430 – 472)	450 (430 – 470)	440 (425 – 483)	0.87
Tempo de isquemia quente, min [mediana (DIQ)]	35 (30 – 40)	35 (32 – 42)	35 (30 – 40)	0.05

Características pós-operatórias				
Concentrado de hemácias nas primeiras 48h*, sim (%)	142 (62.6)	57 (77.0)	85 (55.6)	0.001
Plasma fresco nas primeiras 48h*, sim (%)	139 (61.2)	59 (79.7)	80 (52.3)	<0.001
Injúria renal aguda, sim (%)	66 (29.1)	28 (37.8)	38 (24.8)	0.04
Trombose da artéria hepática, sim (%)	14 (6.2)	5 (6.8)	9 (5.9)	0.80
AST [¶] , U/L [mediana (DIQ)]	762 (389 – 1567)	913 (420 – 2569)	699 (357 – 1439)	0.10
ALT [¶] , U/L [mediana (DIQ)]	594 (322 – 1116)	735 (356 – 1417)	564 (296 – 1053)	0.09
Bilirrubina total [†] , mg/dL [median (IQR)]	1.03 (0.95 – 1.15)	1.85 (0.90 – 5.05)	1.20 (0.80 – 2.9)	0.06
INR [†] [mediana (DIQ)]	1.3 (0.8 – 3.3)	1.08 (0.98 – 1.24)	1.01 (0.9 – 1.1)	0.001
<p>Abreviações: DIQ: Diferença interquartis; CHC: Carcinoma hepatocelular; MELD: <i>Model for end-stage liver disease</i>; IMC: índice de massa corporal; AST: Aspartato transaminase; ALT: Alanina aminotransferase; INR: <i>International normalized ratio</i>.</p> <p>* Inclui o período transoperatório.</p> <p>¶ Mediana do máximo valor durante a primeira semana pós-operatória</p> <p>† No 7º dia pós-operatório</p>				

4.4.2 Fator V e DPE

Dentre os pacientes com Fator V $\leq 36,1$ U/mL, 41 (55,4%) tiveram DPE, enquanto no grupo com Fator V $>36,1$ U/mL 20 (13.1%) pacientes tiveram DPE, $p < 0.001$. Em um modelo com multivariáveis, foram identificados como preditores de DPE: tempo cirúrgico

(por hora) [OR 1.31 (IC 95% 1.05 - 1.64)], perda sanguínea (por 1000 mL) [OR 1.27 (IC 95% 1.06 - 1.51)], IRA [OR 3.96 (IC 95% 1.84 - 8.51)] e Fator V plasmático (por U/mL) [OR 0.96 (IC 95% 0.94 - 0.98)]. Esses resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Regressão logística univariável e multivariável para preditores de disfunção precoce do enxerto após transplante hepático.				
	Univariável		Multivariável	
	OR (CI 95%)	p	OR (CI 95%)	p
Sexo do receptor (ref.: masculino)	0.70 (0.39 - 1.27)	0.24	-	-
Idade, por ano	0.98 (0.95 - 1.01)	0.12	-	-
Etiologia da doença hepática (ref.: hepatite viral)				
Outra	1.33 (0.70 - 2.54)	0.38	-	-
CHC, sim	0.79 (0.44 - 1.42)	0.44	-	-
MELD por unidade	1.01 (0.97 - 1.05)	0.54	-	-
Plaquetas, por 10 ³ /μL	1.01 (0.99 - 1.02)	0.19	-	-
Creatinina pré-operatória, por mg/dL	0.72 (0.43 - 1.21)	0.22	-	-
Sexo do doador (ref.: masculino)	1.20 (0.66 - 2.18)	0.54	-	-
Idade do doador, por ano	1.01 (0.99 - 1.02)	0.5	-	-
IMC do doador, por Kg/m ²	0.92 (0.84 - 1.01)	0.09	-	-
Causa de óbito doador (ref.: acidente cerebrovascular)				
Traumática	0.95 (0.51 - 1.76)	0.87	-	-
Outra	0.64 (0.20 - 2.07)	0.46	-	-
Tempo cirúrgico, por hora	1.49 (1.23 - 1.82)	<0.001	1.31 (1.05 - 1.64)	0.02

Perda sanguínea, por 1.000mL	1.48 (1.25 - 1.75)	<0.001	1.27 (1.06 - 1.51)	0.01
Isquemia fria, por min	0.99 (0.98 - 1.01)	0.23	-	-
Isquemia quente, por min	1.06 (1.01 - 1.10)	0.01	-	-
Concentrado de hemácias nas primeiras 48h (ref.: não)	1.32 (0.71 - 2.45)	0.38	-	-
Plasma fresco nas primeiras 48h (ref.: não)	2.15 (1.13 - 4.12)	0.02	-	-
Injúria renal aguda, (ref.: não)	3.16 (1.70 - 5.88)	<0.001	3.96 (1.84 - 8.51)	<0.001
Trombose da artéria hepática (ref.: não)	1.09 (0.33 - 3.63)	0.88	-	-
Fator V, por U/mL	0.95 (0.93 - 0.96)	<0.001	0.96 (0.94 - 0.98)	<0.001
Abreviações: OR: <i>Odds ratio</i> ; IC: Intervalo de confiança; CHC: Carcinoma hepatocelular; MELD: <i>Model for end-stage liver disease</i> ; IMC: Índice de massa corporal.				

4.4.3 Análise de sobrevida

Para toda a coorte, a sobrevida do enxerto e do paciente em 1, 3 e 6 meses foi de 97%, 84% e 80% e 93%, 89% e 88%, respectivamente. Dentre os grupos em estudo, os pacientes com Fator V ≤ 36.1 U/mL tiveram uma sobrevida atuarial em 1, 3 e 6 meses de 84%, 76% e 76% enquanto pacientes com Fator V > 36.1 U/mL tiveram 98%, 95% e 95%, respectivamente ($p = 0.01$). A sobrevida atuarial do enxerto em 1, 3 e 6 meses foi de 82%, 74% e 74% para o grupo com Fator V ≤ 36.1 U/mL e 98%, 95% e 95% para o grupo com Fator V >36.1 U/mL, respectivamente ($p = 0.01$). As figuras 3 e 4 demonstram as sobrevidas do enxerto e do paciente entre os dois grupos em estudo.

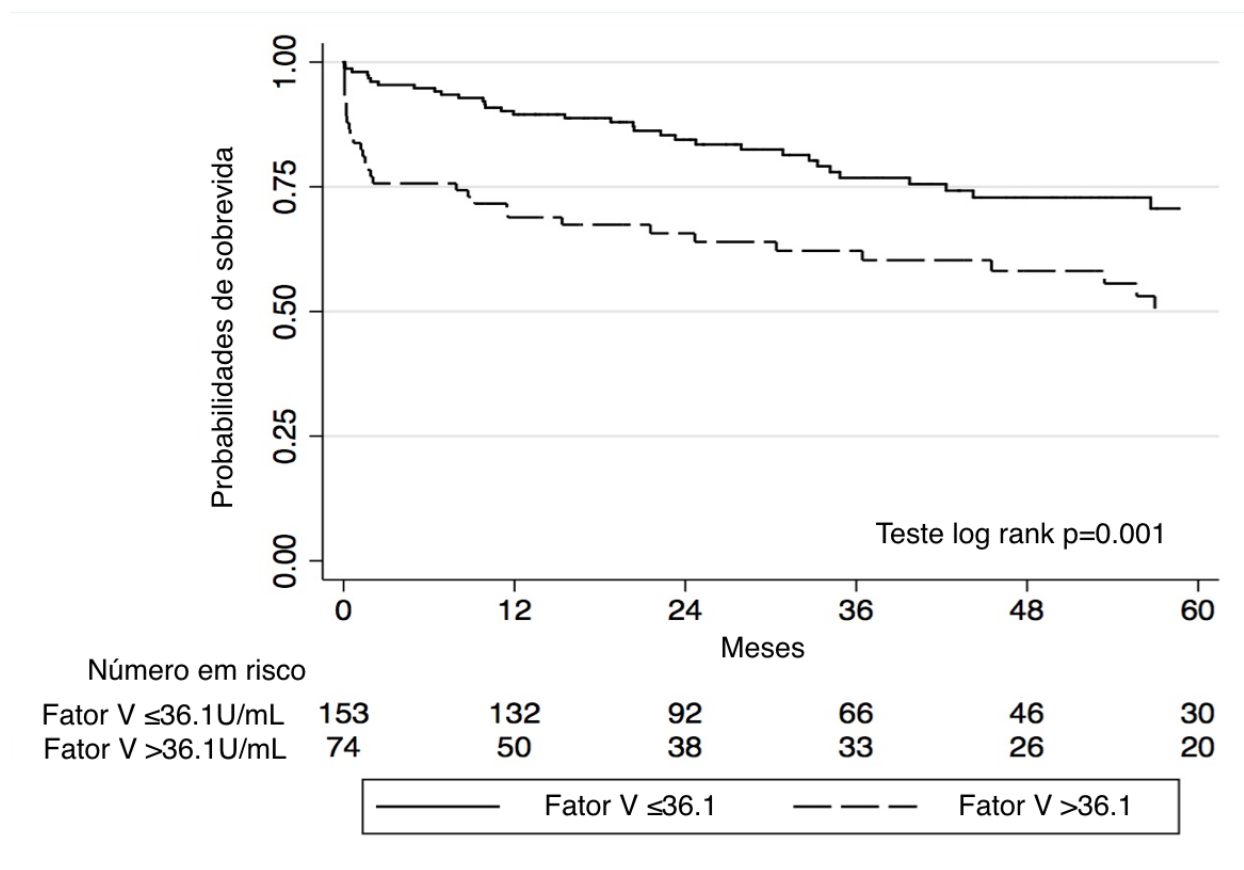


Figura 3 – Sobrevida do enxerto entre pacientes com Fator V \leq 36.1U/mL e > 36.1U/mL

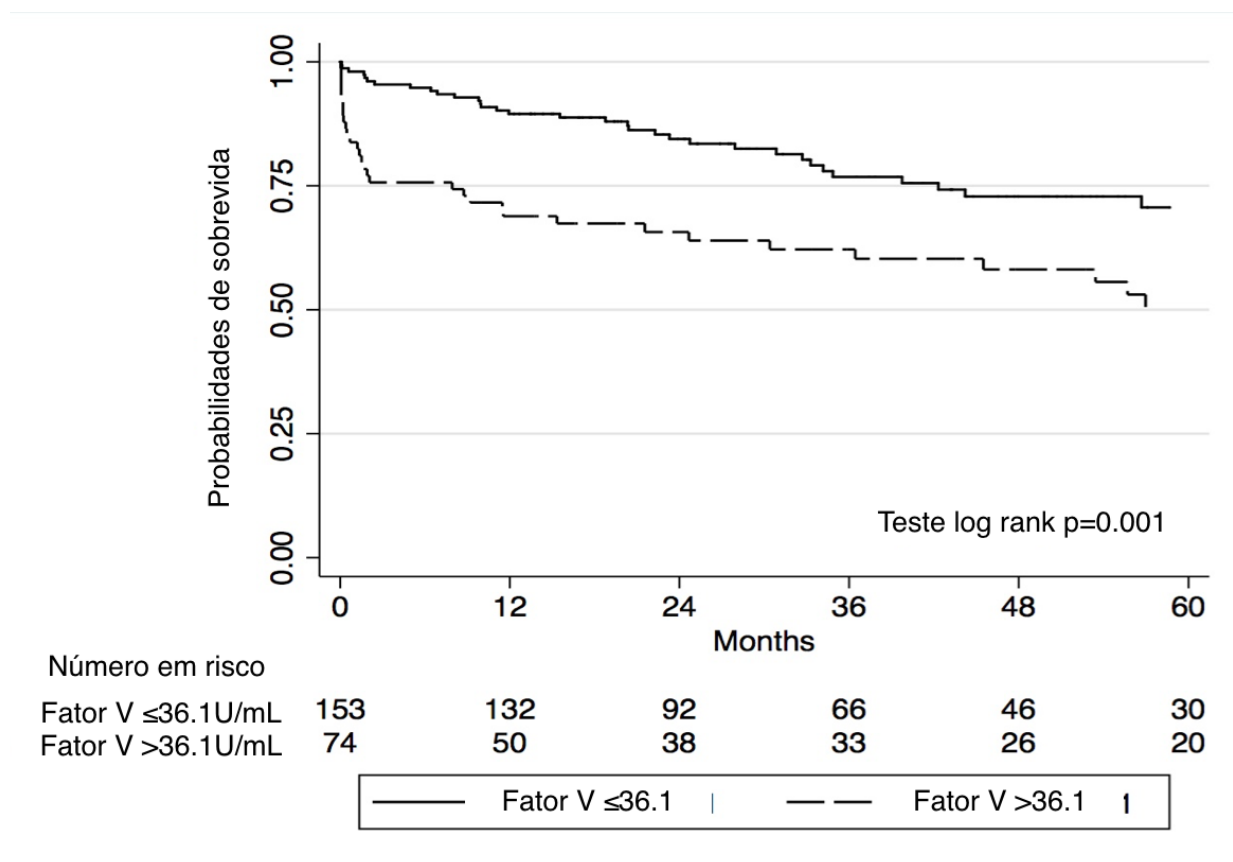


Figura 4 – Sobrevida global entre pacientes com Fator V \leq 36.1U/mL e > 36.1U/mL

Variáveis basais disponíveis foram incluídas em um modelo univariável de regressão logística para prever perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses. Os resultados dessa análise estão disponíveis na Tabela 4. Os resultados da análise com múltiplas variáveis está apresentado na Tabela 4. Para perda do enxerto em 1 mês, DPE teve um RC de 20.97 (IC 95% 2.51 – 175.13) enquanto Fator V como variável contínua (i.e. por U/mL) teve uma RC de 0.95 (IC 95% 0.92 – 0.99). Para perda do enxerto em 3 meses, Fator V (por U/mL) teve RC 0.96 (IC 95% CI 0.94 – 0.99), enquanto DPE não foi significativa. E para perda do enxerto em 6 meses, Fator V (por U/mL) teve uma RC de 0.97 (IC 95% 0.94 – 0.99) e, novamente, DPE não foi significativa. Outras variáveis

capazes de prever perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses foram o IMC do doador, o tempo cirúrgico, o uso de plasma fresco e a ocorrência de TAH (Tabela 5).

Tabela 4: Regressão logística univariável para preditores de perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses após transplante hepático.						
	1 mês		3 meses		6 meses	
	RC (IC 95%)	p	RC (IC 95%)	p	RC (IC 95%)	p
Sexo do receptor (ref.: masculino)	1.10 (0.38 – 3.15)	0.86	0.62 (0.27 – 1.41)	0.25	0.57 (0.25 – 1.27)	0.17
Idade, por ano	1.01 (0.96 - 1.06)	0.73	0.99 (0.96 – 1.04)	0.94	1.00 (0.96 – 1.03)	0.90
Etiologia da doença hepática (ref.: hepatite viral)						
Outra	0.90 (0.28 – 2.91)	0.86	1.52 (0.64 – 3.61)	0.34	1.42 (0.60 – 3.36)	0.42
CHC, sim	1.39 (0.49 – 3.97)	0.54	0.79 (0.35 – 1.79)	0.58	0.73 (0.33 – 1.63)	0.44
MELD por unidade	0.96 (0.89 - 1.04)	0.37	1.01 (0.96 – 1.06)	0.71	1.01 (0.96 – 1.06)	0.60
Plaquetas, por 10 ³ /μL	1.01 (0.99 - 1.02)	0.96	1.00 (0.99 – 1.01)	0.87	1.00 (0.99 – 1.01)	0.86
Creatinina pré-operatória, por mg/dL	1.13 (0.68 - 1.87)	0.64	1.25 (0.85 – 1.84)	0.25	1.26 (0.86 – 1.84)	0.24
Sexo do doador (ref.: masculino)	1.13 (0.40 - 3.15)	0.81	1.06 (0.46 – 2.43)	0.88	0.99 (0.44 – 2.24)	0.98
Idade do doador, por ano	1.01 (0.98 - 1.05)	0.37	0.99 (0.97 – 1.02)	0.99	0.99 (0.97 – 1.02)	0.83
IMC do doador, por Kg/m ²	0.88 (0.75 - 1.04)	0.14	0.87 (0.76 – 0.99)	0.04	0.88 (0.77 – 1.00)	0.06
Causa de óbito doador (ref.:						

acidente cerebrovascular)						
Traumática	0.64 (0.21 – 1.95)	0.44	1.04 (0.45 – 2.43)	0.91	1.16 (0.51 – 2.64)	0.73
Outra	0.56 (0.07 – 4.70)	0.60	0.39 (0.05 – 3.15)	0.38	0.39 (0.05 – 3.15)	0.39
Tempo cirúrgico, por hora	1.51 (1.18 - 1.93)	0.001	1.48 (1.18 – 1.84)	0.001	1.55 (1.23 – 1.94)	<0.001
Perda sanguínea, por 1.000mL	1.28 (1.10 - 1.49)	0.001	1.21 (1.06 – 1.39)	0.01	1.20 (1.05 – 1.38)	0.01
Isquemia fria, por min	0.99 (0.98 - 1.01)	0.11	0.99 (0.98 – 1.00)	0.08	0.99 (0.98 – 1.00)	0.08
Isquemia quente, por min	1.04 (0.97 - 1.12)	0.21	1.04 (0.98 – 1.10)	0.16	1.04 (0.99 – 1.10)	0.13
Concentrado de hemácias nas primeiras 48h (ref.: não)	1.87 (0.58 - 5.99)	0.29	1.72 (0.69 – 4.28)	0.24	1.83 (0.74 – 4.52)	0.19
Plasma fresco nas primeiras 48h (ref.: não)	4.81 (1.07 – 21.73)	0.04	5.61 (1.63 – 19.32)	0.01	5.91 (1.72 – 20.28)	0.01
Injúria renal aguda, (ref.: não)	2.64 (0.95 – 7.35)	0.06	1.34 (0.56 – 3.17)	0.51	1.25 (0.53 – 2.95)	0.60
Trombose da artéria hepática (ref.: não)	10.20 (2.92 – 35.62)	<0.001	7.24 (2.28 – 22.95)	0.001	6.86 (2.17 – 21.66)	0.001
DPE (ref.: não)	53.80 (6.92 – 418.13)	<0.001	8.27 (3.37 – 20.30)	<0.001	7.30 (3.06 – 17.40)	<0.001
Fator V, por U/mL	0.92 (0.89 - 0.96)	<0.001	0.95 (0.92 – 0.97)	<0.001	0.95 (0.93 – 0.97)	<0.001

Abreviações: RC: razão de chances; IC: Intervalo de confiança; IMC: Índice de massa corporal; DPE: Disfunção primária do enxerto.

Tabela 5: Regressão logística multivariável para preditores de perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses após transplante hepático.

Variável	Mortalidade					
	1 mês		3 meses		6 meses	
	RC (IC 95%)	p	RC (IC 95%)	p	RC (IC 95%)	p
IMC do doador, por Kg/m ²	-	-	0.83 (0.69 - 1.01)	0.06	0.86 (0.71 - 1.02)	0.09
Tempo cirúrgico, por hora	-	-	1.30 (1.01 - 1.68)	0.04	1.38 (1.07 - 1.79)	0.01
Plasma fresco nas primeiras 48h (ref.: não)	-	-	3.86 (0.89 - 16.81)	0.07	4.22 (0.97 - 18.37)	0.05
Trombose da artéria hepática (ref.: não)	-	-	19.33 (3.65 - 102.33)	<0.001	16.90 (3.36 - 84.97)	0.001
DPE (ref.: não)	20.97 (2.51 - 175.13)	0.01	3.23 (0.99 - 10.58)	0.05	2.67 (0.85 - 8.38)	0.09
Fator V, por U/mL	0.95 (0.92 - 0.99)	0.02	0.96 (0.94 - 0.99)	0.02	0.97 (0.94 - 0.99)	0.03

Abreviações: RC: razão de chances; IC: Intervalo de confiança; IMC: Índice de massa corporal; DPE: Disfunção primária do enxerto.

4.4.4 Análise de subgrupo

Conduzimos uma análise de sensibilidade para identificar preditores de mortalidade entre os 88 pacientes (39% da coorte) que tiveram AST ou ALT > 1000 U/mL no 1ºPO. O racional seguido para criar essa análise foi que esse é o grupo de pacientes que mais se beneficiaria de um biomarcador capaz de prever desfechos a curto prazo depois de transplante hepático. Depois de ajustes para confundidores como TAH, IMC

do doador, perda sanguínea e tempo cirúrgico, uso de plasma fresco e ocorrência de TAH, Fator V foi um preditor de mortalidade em 3 [RC 0.94 (IC 95% 0.89 – 99)] e 6 meses [RC 0.94 (IC 95% 0.89 – 99)]. DPE não foi capaz de prever mortalidade em 3 [RC 3.48 (IC 95% 0.37 – 32.98)] e 6 meses [RC 3.48 (IC 95% 0.37 – 32.98)].

4.5 Discussão

Este estudo demonstrou com sucesso que os níveis plasmáticos de Fator V são preditores contínuos para diagnóstico de DPE e preditores de perda de enxerto em curto-prazo após transplante hepático. Quando ajustados para potenciais confundidores (incluindo DPE), Fator V foi um preditor de perda do enxerto em 3 e 6 meses enquanto DPE perdeu sua significância. Nossa análise de sensibilidade realizada entre pacientes com transaminases >1.000 U/L no primeiro dia após transplante confirmou nossos resultados. Anteriormente, havíamos demonstrado que os níveis de Fator V são relacionados com mortalidade em curto-prazo após transplante hepático.⁵ Contudo, esta é a primeira vez que o Fator V é comparado a um critério validado de DPE, demonstrando consistentemente seu valor como biomarcador no período pós-operatório precoce do transplante hepático. Além disso, pudemos demonstrar que Fator V foi um preditor contínuo para perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses. Nesse sentido, a Figura 5 mostra a incidência desses desfechos de acordo com quadro estratos de Fator V. portanto, o presente estudo demonstrou profundamente o papel potencial do Fator V no cuidado pós-operatório do transplantado hepático.

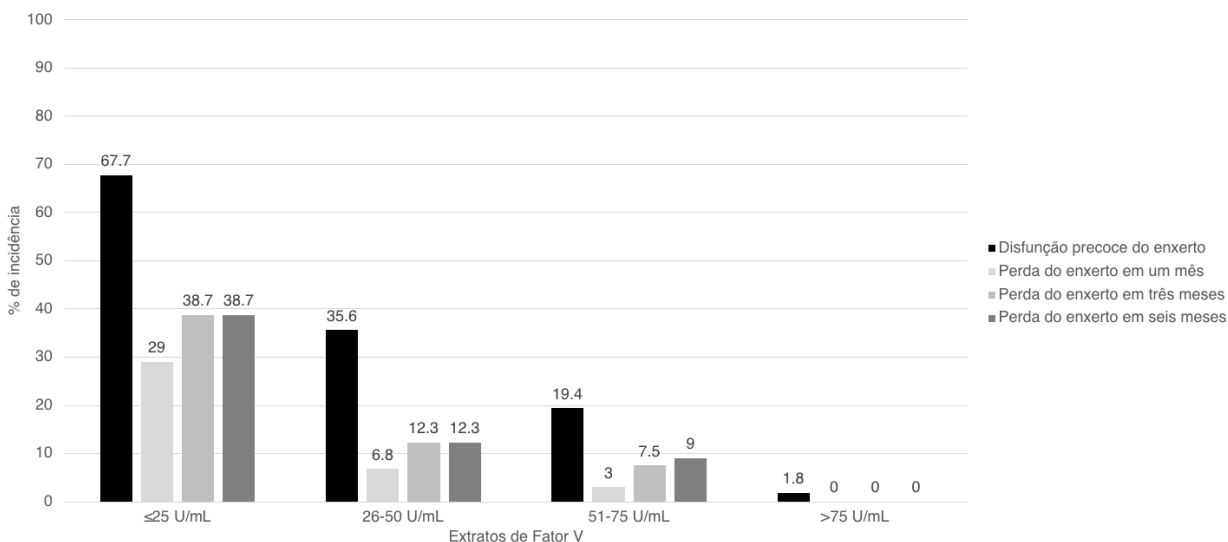


Figura 5 – Incidência de disfunção precoce do enxerto e perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses entre pacientes com diferentes extratos de Fator V.

Nós identificamos três potenciais vantagens no uso do Fator V no pós-operatório imediato do transplante hepático. Primeiro, os níveis plasmáticos de Fator V são relacionados com a função do enxerto no pós-operatório precoce após transplante hepático. Esse achado está em acordo com estudos anteriores que demonstraram que o Fator V é um biomarcador para a função hepática no quadro de insuficiência hepática aguda.²⁵ Segundo, Fator V pode prever mais cedo a perda do enxerto em 1, 3 e 6 meses quando comparado com o conceito dominante de DPE. Esse resultado sugere que uma única medida de Fator V no 1ºPO após o transplante pode ser um preditor independente de perda do enxerto a despeito da presença ou não de DPE. Essa habilidade de aferir a função hepática muito rapidamente é, muito provavelmente, devido a curta meia-vida do

Fator V. Por último, Fator V pode ser interpretado continuamente; níveis mais baixos estão, portanto, relacionados à piores desfechos do que níveis mais altos. No presente estudo, a queda de uma única unidade de Fator V por mililitro de plasma representou um aumento de 3% na chance de perda do enxerto em 6 meses. O conceito corrente de DPE, embora valioso, é incapaz de fornecer esse tipo de informação. Essa avaliação contínua do risco é especialmente relevante para pacientes com enxertos “claudicantes” após transplante hepático. Dessa forma, nossa análise de sensibilidade demonstrou que entre pacientes com AST/SLT >1.000 U/L no 1ºPO, o Fator V ainda é um preditor significativo de perda do enxerto em 3 e 6 meses. Essa informação pode ser valiosa quando consideramos re-listar um paciente com suspeita de falência primária do enxerto. Vários esforços têm sido feitos para desenvolver novos preditores de mortalidade após transplante hepático.⁸ Jochmans et al. recentemente, propuseram o escore “*model for early allograft function*” (MEAF) para prever a mortalidade usando dados laboratoriais dentro de 3 dias após o transplante hepático.²⁶ O escore MEAF aborda a limitação do critério DPE na identificação de variações no risco de mortalidade após transplante hepático entre pacientes com diferentes graus de disfunção do enxerto. No entanto, a pontuação da MEAF é baseada nos mesmos resultados laboratoriais do DPE (ou seja, AST/ALT e INR e bilirrubina total) e, pelo menos teoricamente, tem capacidade limitada para adicionar novas informações sobre os resultados dos pacientes. Por outro lado, o Fator V, como um biomarcador totalmente novo, é mostrado neste trabalho como um preditor preciso para resultados de curto prazo pós-LT. No entanto, comparar o nível do Fator V com o escore do MEAF ou criar um novo sistema de escore de disfunção do enxerto, incluindo o Fator V, não foi o objetivo deste estudo. Outros estudos têm proposto

a medida do desaparecimento do verde da indocianina como substituto da função do enxerto e a mortalidade após transplante.^{27,28} Uma limitação importante do desaparecimento do verde da indocianina é o fato de que sua taxa de desaparecimento depende do fluxo arterial hepático. Portanto, a taxa de desaparecimento pode ser afetada por situações comuns no período de peri-transplante, como instabilidade hemodinâmica ou TAH.⁸ Wu et al. demonstraram que a taxa de depuração de lactato pode ser um preditor da função deficiente do enxerto.²⁹ Infelizmente, eles não avaliaram os desfechos após a alta hospitalar. Recentemente, Okumara et al. validaram o conceito de DPE para receptores de transplante hepático de doadores vivos.³⁰ Curiosamente, eles não encontraram transaminases >2.000 UI/L até o 7ºPO como capaz de prever a perda do enxerto. Esta falta de concordância nos conceitos de DPE para os receptores de doadores falecidos e doadores vivos deve ser abordada em estudos posteriores.

Modelos ex-vivo para preservação do enxerto têm aplicado vários biomarcadores para identificar a função do enxerto prejudicada.³¹ Brockmann et al. demonstraram que o fluxo de bile durante a perfusão ex-vivo é um preditor de PDE.³² No entanto, Boehnert et al. demonstraram que o fluxo biliar durante a perfusão ex-vivo pode ser influenciado pela secreção de fluidos semelhantes a soro pela mucosa biliar, aumentando falsamente o volume biliar.³³ Por essa razão, os autores sugerem que não apenas a quantidade, mas a composição da bile deve ser avaliada em modelos experimentais de perfusão ex-vivo.³¹ Esse tipo de medida pode ser muito trabalhoso de ser realizado e pode aumentar os custos de pesquisa. Por outro lado, Jamieson et al. aplicaram o Fator V como biomarcador para a função hepática em um modelo animal experimental.³⁴ Eles usaram

o Fator V como um substituto para a função hepática para demonstrar que os fígados esteatóticos podem ser preservados em modelos ex-vivo. Este trabalho está de acordo com Knaak et al. que desenvolveram um modelo subnormotérmico ex-vivo e também aplicaram o Fator V como resultado experimental.³⁵ Com base no nível do Fator V (e INR), concluíram que seu modelo animal subnormotérmico ex-vivo promoveu função hepática semelhante entre enxertos de doação após morte e morte cerebral armazenamento frio de fígados normais. Portanto, esses estudos mostraram que o Fator V é um biomarcador útil para a função hepática em pesquisas experimentais. Este trabalho vem para fornecer evidências clínicas do que é bem conhecido do campo experimental. O fato de o Fator V ter provado seu papel na pesquisa experimental e clínica faz dele um interessante biomarcador para protocolos de pesquisa translacional.

Neste trabalho, encontramos outros resultados interessantes. A necessidade de transfusão de plasma fresco foi frequente em ambos os grupos do estudo. Teoricamente, o uso perioperatório de transfusão de FFP poderia influenciar os níveis pós-operatórios do Fator V, como é visto no tratamento da deficiência de Fator V.²¹ Incluímos transfusões de plasma fresco em todas as regressões multivariáveis para garantir que esse potencial viés fosse abordado. Nesta coorte, pacientes que tiveram IRA apresentaram risco aumentado de DPE. Esta relação entre IRA e DPE foi descrita anteriormente. Wadei et al. demonstraram que pacientes com DPE apresentam maior risco de IRA após transplante hepático.²² No presente trabalho, no entanto, mostramos que pacientes que se apresentam com IRA dentro de 48h após a transplante hepático têm 4 vezes mais chances de desenvolver DPE. Nesta coorte, a incidência de TAH foi de 6%. Isso está de

acordo com a literatura.²³ O aumento do risco de perda do enxerto em pacientes com TAH já foi relatado e os achados do presente estudo confirmam isso.²³ Portanto, a nossa descoberta de que a TAH está relacionada ao aumento do risco de perda do enxerto está em acordo com a literatura.²⁴

Este estudo tem algumas limitações. Nosso centro não realiza biópsia de enxerto de rotina; assim, não conseguimos incluir o grau de esteatose nos modelos de regressão multivariável. No entanto, acreditamos que essa ausência não invalida nossos resultados, pois todos os modelos incluíram o IMC do doador. Finalmente, este não foi um ensaio prospectivo; assim, esses resultados devem ser interpretados considerando as limitações inerentes do desenho do estudo. Este foi um estudo realizado em um único centro e, idealmente, esses resultados devem ser validados externamente em estudos prospectivos maiores (ou multicêntricos) antes de se tornarem amplamente aceitos.

Em conclusão, o Fator V é um biomarcador promissor de desfechos de curto prazo após transplante hepático. Quando ajustado para fatores de confusão, o Fator V foi um preditor contínuo para a perda do enxerto após transplante hepático, independentemente do status de DPE. O desenvolvimento deste promissor biomarcador pode permitir intervenções mais precoces para pacientes com disfunção do enxerto pós-transplante e também pode ser útil em pesquisas translacionais. Novos estudos devem ser feitos para corroborar esses achados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):e11-22.
2. Northup PG, Intagliata NM, Shah NL, Pelletier SJ, Berg CL, Argo CK. Excess mortality on the liver transplant waiting list: unintended policy consequences and Model for End-Stage Liver Disease (MELD) inflation. *Hepatology.* 2015;61(1):285-291.
3. Sapisochin G, Bruix J. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(4):203-217.
4. Emre S, Schwartz ME, Altaca G, et al. Safe use of hepatic allografts from donors older than 70 years. *Transplantation.* 1996;62(1):62-65.
5. McCormack L, Dutkowski P, El-Badry AM, Clavien PA. Liver transplantation using fatty livers: always feasible? *J Hepatol.* 2011;54(5):1055-1062.
6. Mateo R, Cho Y, Singh G, et al. Risk factors for graft survival after liver transplantation from donation after cardiac death donors: an analysis of OPTN/UNOS data. *Am J Transplant.* 2006;6(4):791-796.
7. Lee DD, Singh A, Burns JM, Perry DK, Nguyen JH, Taner CB. Early allograft dysfunction in liver transplantation with donation after cardiac death donors results in inferior survival. *Liver Transpl.* 2014;20(12):1447-1453.

8. Bolondi G, Mocchegiani F, Montalti R, Nicolini D, Vivarelli M, De Pietri L. Predictive factors of short term outcome after liver transplantation: A review. *World J Gastroenterol.* 2016;22(26):5936-5949.
9. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl.* 2010;16(8):943-949.
10. Jochmans I, Fiewu S, Monbaliu D, Pirenne J. "Model for Early Allograft Function" Outperforms "Early Allograft Dysfunction" as a Predictor of Transplant Survival. *Transplantation.* 2017;101(8):e258-e264.
11. Krueh CR, Chedid A, Grezzana-Filho T, Leipnitz I. Can we go further in translational medicine with silver-standard criteria for early allograft dysfunction? *Liver Transpl.* 2014;20(4):500-501.
12. Royston P, Altman DG, Sauerbrei W. Dichotomizing continuous predictors in multiple regression: a bad idea. *Stat Med.* 2006;25(1):127-141.
13. Huang JN, Koerper MA. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia.* 2008;14(6):1164-1169.
14. Camire RM. A new look at blood coagulation factor V. *Curr Opin Hematol.* 2011;18(5):338-342.
15. Zulian MC, Chedid MF, Chedid AD, et al. Low serum factor V level: early predictor of allograft failure and death following liver transplantation. *Langenbecks Arch Surg.* 2015;400(5):589-597.

16. von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Int J Surg*. 2014;12(12):1495-1499.
17. Rahman S, Davidson BR, Mallett SV. Early acute kidney injury after liver transplantation: Predisposing factors and clinical implications. *World J Hepatol*. 2017;9(18):823-832.
18. Schumann R, Mandell MS, Mercaldo N, et al. Anesthesia for liver transplantation in United States academic centers: intraoperative practice. *J Clin Anesth*. 2013;25(7):542-550.
19. Adcock DM. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. In. 5th ed. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
20. Ruopp MD, Perkins NJ, Whitcomb BW, Schisterman EF. Youden Index and optimal cut-point estimated from observations affected by a lower limit of detection. *Biom J*. 2008;50(3):419-430.
21. Bernal W, Auzinger G, Dhawan A, Wendon J. Acute liver failure. *Lancet*. 2010;376(9736):190-201.
22. Pareja E, Cortes M, Hervás D, et al. A score model for the continuous grading of early allograft dysfunction severity. *Liver Transpl*. 2015;21(1):38-46.
23. Levesque E, Saliba F, Benhamida S, et al. Plasma disappearance rate of indocyanine green: a tool to evaluate early graft outcome after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009;15(10):1358-1364.

24. Schneider L, Spiegel M, Latanowicz S, et al. Noninvasive indocyanine green plasma disappearance rate predicts early complications, graft failure or death after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011;10(4):362-368.
25. Wu JF, Wu RY, Chen J, Ou-Yang B, Chen MY, Guan XD. Early lactate clearance as a reliable predictor of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011;10(6):587-592.
26. Okamura Y, Yagi S, Sato T, et al. Coexistence of Bilirubin ≥ 10 mg/dL and Prothrombin Time-International Normalized Ratio ≥ 1.6 on Day 7: A Strong Predictor of Early Graft Loss after Living Donor Liver Transplantation. *Transplantation.* 2017.
27. Verhoeven CJ, Farid WR, de Jonge J, Metselaar HJ, Kazemier G, van der Laan LJ. Biomarkers to assess graft quality during conventional and machine preservation in liver transplantation. *J Hepatol.* 2014;61(3):672-684.
28. Brockmann J, Reddy S, Coussios C, et al. Normothermic perfusion: a new paradigm for organ preservation. *Ann Surg.* 2009;250(1):1-6.
29. Boehnert MU, Yeung JC, Knaak JM, Selzner N, Selzner M. Normothermic acellular ex vivo liver perfusion (NEVLP) reduces liver and bile duct in DCD liver grafts. *Am J Transplant.* 2013;13(12):3290.
30. Jamieson RW, Zilvetti M, Roy D, et al. Hepatic steatosis and normothermic perfusion-preliminary experiments in a porcine model. *Transplantation.* 2011;92(3):289-295.
31. Knaak JM, Spetzler VN, Goldaracena N, et al. Subnormothermic ex vivo liver perfusion reduces endothelial cell and bile duct injury after donation after cardiac death pig liver transplantation. *Liver Transpl.* 2014;20(11):1296-1305.

32. Thalji N, Camire RM. Parahemophilia: new insights into factor v deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39(6):607-612.
33. Wadei HM, Lee DD, Croome KP, et al. Early Allograft Dysfunction After Liver Transplantation Is Associated With Short- and Long-Term Kidney Function Impairment. *Am J Transplant.* 2016;16(3):850-859.
34. Bekker J, Ploem S, de Jong KP. Early hepatic artery thrombosis after liver transplantation: a systematic review of the incidence, outcome and risk factors. *Am J Transplant.* 2009;9(4):746-757.
35. Stewart ZA, Locke JE, Segev DL, et al. Increased risk of graft loss from hepatic artery thrombosis after liver transplantation with older donors. *Liver Transpl.* 2009;15(12):1688-1695.

5 ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

Serum Factor V is a Continuous Biomarker of Graft Dysfunction and a Predictor of Graft Loss after Liver Transplantation

Andre Gorgen^{1,3}, Carolina Prediger², João E Prediger², Marcio F Chedid^{1,2}, Ariane N Backes², Alexandre de Araujo², Tomaz JM Grezzana-Filho², Ian Leipnitz², Aljamir D. Chedid², Mario R Alvares-da-Silva², Gonzalo Sapisochin³, Cleber RP Kruehl^{1,2}

Affiliations:

4. Postgraduate Program, Surgical Sciences, Medical School, Federal University of Federal do Rio Grande do Sul
5. Liver Transplant Program, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil
6. Multi-Organ Transplant Program, General Surgery Department, University Health Network, Toronto General Hospital, University of Toronto, Toronto, Canada

5.1 Abstract

Background: Factor V has never been compared to a validated early allograft dysfunction (EAD) definition. We aimed to assess Factor V as a biomarker of EAD and a predictor of graft loss after liver transplantation (LT).

Methods: We retrospectively assessed the serum Factor V on postoperative day 1 after LT. Patients were divided according to Factor V level: ≤ 36.1 U/mL and > 36.1 U/mL. The primary outcome was graft loss within 1-, 3- and 6-months. The secondary outcome was EAD as defined by Olthoff et al. Predictors of outcomes were identified by multivariable logistic regression.

Results: 227 patients have been included in the study: 74 with Factor V ≤ 36.1 U/mL and 153 with Factor V > 36.1 U/mL. Among the patients with Factor V ≤ 36.1 U/mL, 41 (55.4%) had EAD whereas 20 (13.1%) patients with Factor V > 36.1 U/mL had EAD, $p < 0.001$. In a multivariable regression model, Factor V was continuous a predictor for EAD [OR=0.96 (95%CI 0.94-0.98) per U/mL]. Between the study groups, patients with Factor V ≤ 36.1 U/mL had a 1-, 3- and 6-months graft-survival of 82%, 74% and 74% whereas patients with Factor V > 36.1 U/mL had 98%, 95% and 95%, respectively ($p = 0.001$). Factor V was a continuous predictor for 3- and 6-month graft loss [(OR=0.96 (95%CI 0.94-0.99) and OR=0.97 (95%CI 0.94-0.99) per U/mL] whereas EAD was not significant when adjusted for Factor V.

Conclusion: Factor V is an early biomarker for EAD and is continuous predictor of short-term graft loss and after LT. Factor V is a promisor biomarker for short-term outcomes after LT.

5.2 Introduction

Liver transplantation (LT) is a widely accepted treatment for patients with end stage liver disease and selected hepatocellular carcinoma (HCC).¹ Unfortunately, the disparity between the number of transplant candidates and available grafts is a major concern worldwide.² To manage organ shortage, strategies have been developed to increase the organ pool.³ The use of grafts from older donors (>70-years old), fatty livers, donation after cardiac death and split livers, under certain circumstances, have proven to be feasible.⁴⁻⁶ On the other hand, the use of “*non-ideal grafts*” may increase the risk of postoperative graft dysfunction.⁷ In the last decade, several definitions for early allograft dysfunction (EAD) have been published.⁸ In 2010, Olthoff et al. published a definition for EAD and has become the most widely accepted.⁹ According to this criteria, EAD would be present if transaminases were greater than 2000 U/L within the first week after LT or total bilirubin were greater than 10mg/dL or international normalized ratio (INR) was greater than 1.6 on postoperative day (POD) 7. Patients fulfilling EAD criteria have an increased risk for 6-months mortality.⁹ However, one limitation of this EAD definition is its dichotomous nature. Due to this characteristic, this concept of EAD does not provide information regarding variances in the risk for mortality among patients with different degrees of graft function.^{10,11} In fact, it is known that prognostic accuracy of binary scores are inferior to that of continuous risk scores.¹² Moreover, in some cases, the EAD diagnosis is only made on POD 7. This concept may be not very useful in the clinical context of a patient with impaired liver function within the first week after transplantation. In this regard, a biomarker that could predict short-term outcomes earlier in the

postoperative course identifying higher risk individuals, would allow for earlier intervention and, potentially, decrease morbidity and mortality.

Factor V is a cofactor of the prothrombinase complex that activates prothrombin to thrombin and interacts with several coagulation factors.¹³ Factor V is primarily produced by the liver and 80% of Factor V is circulating freely in the plasma.¹⁴ Factor V's half-life is relatively short (12 – 36 hours) and its production does not depend on vitamin K, relying mainly on liver function. We have previously demonstrated that Factor V is a biomarker for short-term mortality after LT.¹⁵ However, Factor V has never been compared to a validated graft dysfunction definition. Therefore, the aim of this study is to assess whether Factor V can predict EAD after LT and assess the use of Factor V as a predictor of post-transplant graft-loss.

5.3 Methods

5.3.1 Study design and patient selection

This was a retrospective cohort study that assessed adults (age ≥ 18 -years old) who underwent LT at the Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Brazil, between March 1st, 2007 and March 1st, 2017. Recipients of living donor liver transplantation, recipients that underwent multi-organ transplant and patients with missing information were excluded. This study was approved by the institutional ethic research ethics board (GPPG #16-

0456). Patients' informed consent was waived due to the retrospective nature of the study. This study complies with the STROBE statement for retrospective studies.¹⁶

5.3.2 Data collection and outcomes

Variables collected included donors and recipients' demographics. To ensure the accuracy of the data and minimize the risk of information bias, all medical records were independently reviewed by 3 researchers (AG, CP and JEP). Recipients' information was collected from electronic charts at our center. Donors' information was collected from the local organ sharing network's records. Recipient's pre-transplantation data collected included the MELD score, the platelets, the basal creatinine, the etiology of liver disease (categorized between chronic viral hepatitis and other causes of cirrhosis) and whether patient had preoperatively known HCC. Donor clinical variables included body mass index (BMI) and cause of death. Surgical variables were the cold and warm ischemia time, the surgical length of time in hours and the estimated blood loss (EBL). The need of red cells transfusion and fresh frozen plasma (FFP) within the surgery start time up to 48h after surgery were recorded as a dichotomous variable. Recipients' laboratory data within the first week after LT were collected as follows: daily aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), prothrombin time (as INR) and total bilirubin. Acute kidney failure (AKF) was defined as ≥ 1.5 times increase in the preoperative basal creatinine within the first 48h after LT.¹⁷ We recorded occurrence of hepatic artery thrombosis (HAT) within the POD 7. Diagnosis of HAT was made by computed tomography scan. The study primary outcome was 1-, 3- and 6-month graft-survival.

Graft-loss was defined as the graft failure requiring transplantation or patient death. The secondary outcomes were EAD and 1-, 3- and 6-month patient survival. EAD was defined whether any of the following were present: total bilirubin ≥ 10 mg/dL on POD 7; or INR ≥ 1.6 on POD 7; or ALT or AST >2000 U/L within the 7 first days after LT.⁹

5.3.3 Liver transplantation and postoperative care

All the procurement procedures were performed by surgeons certified by the national organ sharing network. All patients were ABO compatible. The preservation solution was the histidine-tryptophan-ketoglutarate solution until 2011 and the Institute Georges Lopez solution thereafter. Graft biopsy were performed in a case-by-case basis. Roughly, we performed graft biopsy if the donor has an BMI >30 kg/m² or if the team consider the graft macroscopically fatty. For grafts with macrosteatosis, we apply 60% as limit for acceptance. All LT were performed by the same group (4 senior surgeons: CRPK, ADC, TJMG and IL) using the “piggy-back” technique. Postoperatively, all patients were managed in the intensive care unit by the same team until POD 3. Recipients received enteral nutrition from POD 1. Doppler ultrasound was daily performed as our center routine up to the POD 7 in order to detect vascular complications. Red blood cells and FFP were provided as appropriate under thromboelastography guidance.¹⁸ Standard immunosuppression regimens were based on tacrolimus, mycophenolate mofetil and steroids. Induction with basiliximab was used in patients with AKF.

5.3.4 Factor V

As our program routine, all patients had serum Factor V prospectively collected at POD 1. We have chosen POD 1 for the Factor V measurement given that Factor V's half-life is 12 – 36 hours; therefore, the plasmatic level between 24 – 48 hours from LT will represent mainly the Factor V produced by the graft rather of the recipient's Factor V. Factor V assay was performed by coagulometry and read by optic detection in Destiny Max™ (Tcoag Stago Group, Bray, Co. Wicklow, Ireland) analyzer. The reagent was Triniclot™ Factor V (Tcoag Stago Group, Bray, Co. Wicklow, Ireland). Quality control was performed with two levels of control with Trinicheck™ control 1 and Trinicheck™ Abnormal Control™ (Tcoag Stago Group, Bray, Co. Wicklow, Ireland). All procedures were standardized by international guidelines.¹⁹

5.3.5 Statistical analysis

Descriptive data were expressed as mean \pm standard deviation or median and interquartile range and compared by the Student *t* test or Mann-Whitney U test when appropriate. Normality was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. Categorical variables were expressed as proportions and compared by the chi-squared test with Fisher's correction. Receiver operating characteristics (ROC) curve was plotted for Factor V as predictor for 6-month graft loss and the area under the curve (AUC) was calculated (Figure 1). The AUC was 0.78. The optimum threshold value of 36.1U/mL for Factor V was defined by Youden index²⁰ and groups were divided by this threshold. With this

threshold, Factor V had a sensitivity of 73% and a specificity 70% to predict 6-months graft loss.

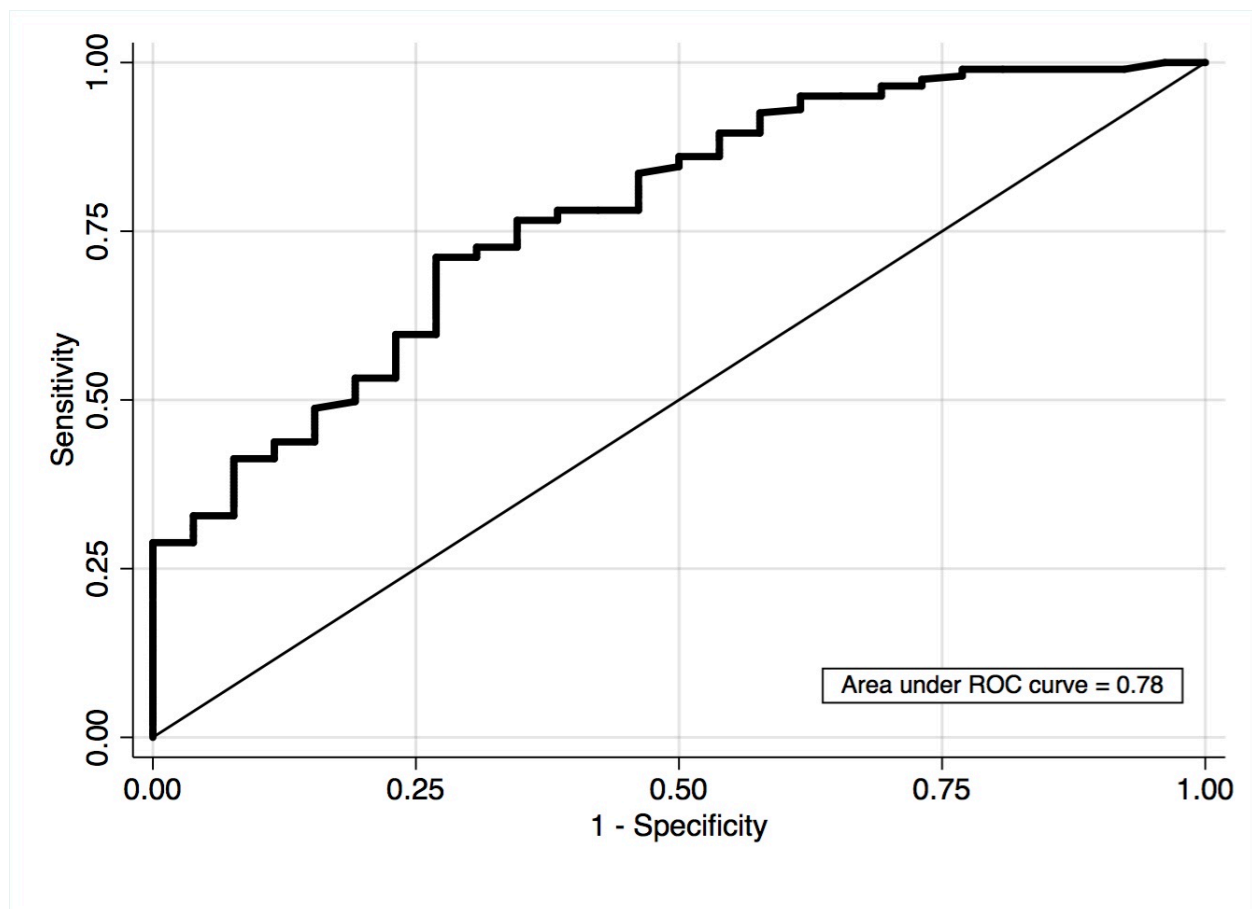


Figure 1: Receiver operating characteristics curve of Factor V as a predictor for 6-month graft loss.

The graft- and patient-survival were estimated by the Kaplan-Meier method and groups were compared using the log-rank test. The survival time was defined as the time between the study's groups definition (i.e. the Factor V measurement) and death, last visit

or the end of study on December 31st, 2017. We have chosen the Factor V drawn date as the follow-up starting point instead of LT date given the study groups were defined once the plasmatic Factor V was known. By doing that we respected the principles of survival analysis, enriching the results accuracy. Therefore, graft survival was defined as the time between the groups definition (i.e. POD 1) and re-transplantation, death, last visit or the end of study. Univariable and multivariable logistic regression were calculated to identify predictors of EAD, 1-, 3- and 6-months graft-survival. Variables with a $p < 0.10$ were included in the multivariable model and the final model was chosen by stepwise backward approach. We applied a significance level of $p < 0.10$ for removal from the model and $p < 0.05$ for addition to the model. To assure the comparability between Factor V levels and EAD, we kept both variables in the final model regardless their significance. Results of regression models were reported as odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (CI). All patients in the study were followed for a minimum of 12 months, thus the logistic regression was not affected by potential follow-up differences. The assumptions for the logistic regression models were not violated as assessed through Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test. A $p < 0.05$ was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using STATA 15.0 (Stata Corp., College Station, TX).

5.4 Results

5.4.1 Study population

During the study period, 247 adults underwent LT at our center. Among those, 20 were excluded from the study: 2 patients underwent living donor liver transplantation (domino transplantation), 2 underwent multi-organ transplantation (liver and kidney) and 16 patients had incomplete data. Therefore, the final study population was comprised of 227 patients with no missing data. Seventy-four patients were included in the Factor V ≤ 36.1 U/mL group and 153 patients were included in Factor V > 36.1 U/mL group. The baseline characteristics of the patients in study are presented on Table 1. The preoperative and donor's characteristics were similar between the two study groups. Patients in the Factor V ≤ 36.1 U/mL group had longer surgeries, higher EBL, needed more red blood cells and FFP transfusions and had higher incidence of AKF. The median follow-up was 29.5 (IQR 15.1 – 55.0) months with no differences between study groups [Factor V ≤ 36.1 U/mL 25.5 (IQR 6.5 – 66.4) and Factor V > 36.1 U/mL 30.6 (IQR 16.9 – 52.8), $p=0.24$].

Table 1: Baseline characteristics of patients in study				
Variable	Overall n = 227	According Factor V levels		
		Factor V ≤ 36.1U/mL n = 74	Factor V > 36.1U/mL n = 153	p
Recipients characteristics				
Gender, male (%)	137 (60.4)	50 (67.6)	87 (56.9)	0.12
Age, years [median (IQR)]	57 (50 – 62)	57.0 (48.0 – 61.2)	57.0 (51.0 – 62.0)	0.61
Underlying liver disease (%)				0.10

Viral hepatitis	166 (73.1)	49 (66.2)	117 (76.5)	
Other	61 (26.9)	25 (33.8)	36 (23.5)	
HCC, yes (%)	125 (55.1)	36 (48.6)	89 (58.2)	0.18
MELD [median (IQR)]	13 (10 – 19)	14 (11 – 22)	13 (10 – 18)	0.06
Platelets, 10 ³ /μL [median (IQR)]	75 (52 – 105)	73.5 (53.5 – 106.5)	75.0 (51.5 – 105.0)	0.88
Preoperative creatinine, mg/dL [median (IQR)]	0.84 (0.69 – 1.16)	0.90 (0.72 – 1.45)	0.82 (0.68 – 1.04)	0.02
Donors characteristics				
Gender, male (%)	134 (51.0)	46 (62.2)	88 (57.5)	0.50
Age, years [median (IQR)]	42 (23 – 53)	44.0 (23.0 – 52.7)	40.5 (22.0 – 53.8)	0.90
BMI donor, Kg/m ² [median (IQR)]	24.78 (22.85 – 26.77)	24.4 (22.8 – 26.4)	25.2 (23.1 – 27.3)	0.31
Donor cause of death				
Cerebrovascular accident (%)	118 (52.00)	36 (48.6)	82 (53.6)	0.68
Traumatic (%)	89 (39.20)	30 (40.5)	59 (38.6)	
Other (%)	20 (8.80)	8 (10.8)	12 (7.8)	
Surgical characteristics				
Surgical time, hours, [median (IQR)]	5.5 (4.50 – 6.45)	6.0 (5.2 – 7.3)	5.2 (4.5 – 6.0)	<0.001
Estimated blood loss, 10 ³ mL, [median (IQR)]	2.9 (2.5 – 4.7)	4.5 (2.7 – 5.5)	2.7 (2.0 – 3.5)	<0.001
Cold ischemia time, min [median (IQR)]	445 (430 – 472)	450 (430 – 470)	440 (425 – 483)	0.87
Warm ischemia time, min [median (IQR)]	35 (30 – 40)	35 (32 – 42)	35 (30 – 40)	0.05
Post-operative characteristics				

Red cell transfusion first 48h [*] , yes (%)	142 (62.6)	57 (77.0)	85 (55.6)	0.001
Frozen plasma first 48h [*] , yes (%)	139 (61.2)	59 (79.7)	80 (52.3)	<0.001
Acute kidney failure, yes (%)	66 (29.1)	28 (37.8)	38 (24.8)	0.04
Hepatic artery thrombosis, yes (%)	14 (6.2)	5 (6.8)	9 (5.9)	0.80
AST [†] , U/L [median (IQR)]	762 (389 – 1567)	913 (420 – 2569)	699 (357 – 1439)	0.10
ALT [†] , U/L [median (IQR)]	594 (322 – 1116)	735 (356 – 1417)	564 (296 – 1053)	0.09
Total bilirubin [†] , mg/dL [median (IQR)]	1.03 (0.95 – 1.15)	1.85 (0.90 – 5.05)	1.20 (0.80 – 2.9)	0.06
INR [†] [median (IQR)]	1.3 (0.8 – 3.3)	1.08 (0.98 – 1.24)	1.01 (0.9 – 1.1)	0.001
Abbreviations: IQR: Interquartile range; HCC: Hepatocellular carcinoma; MELD: Model for end-stage liver disease; BMI: Body mass index; AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; INR: International normalized ratio. * Includes the transoperative period. † Median of the maximum value within the first week after transplantation † On postoperative day 7				

5.4.2 Factor V and EAD

Among the patients in the Factor V ≤ 36.1 U/mL group, 41 (55.4%) had EAD whereas in the Factor V > 36.1 U/mL group 20 (13.1%) had EAD, $p < 0.001$. In the multivariable logistic regression model, predictors of EAD were: surgical length of time (per hour) [OR 1.31 (95% CI 1.05 - 1.64)], EBL (per 1000mL) [OR 1.27 (95% CI 1.06 - 1.51)], AKF [OR 3.96 (95% CI 1.84 - 8.51)] and plasmatic Factor V (per U/mL) [OR 0.96 (95% CI 0.94 - 0.98)]. These results are presented in Table 2.

	Univariable		Multivariable	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
Recipient gender, (ref.: male)	0.70 (0.39 - 1.27)	0.24	-	-
Age, per year	0.98 (0.95 - 1.01)	0.12	-	-
Underlying liver disease (ref.: viral hepatitis)				
Other	1.33 (0.70 - 2.54)	0.38	-	-
HCC, yes	0.79 (0.44 - 1.42)	0.44	-	-
MELD per unit	1.01 (0.97 - 1.05)	0.54	-	-
Platelets, per 10 ³ /μL	1.01 (0.99 - 1.02)	0.19	-	-
Preoperative creatinine, per mg/dL	0.72 (0.43 - 1.21)	0.22	-	-
Donor gender (ref.: male)	1.20 (0.66 - 2.18)	0.54	-	-
Donor age, per year	1.01 (0.99 - 1.02)	0.5	-	-
BMI donor, per Kg/m ²	0.92 (0.84 - 1.01)	0.09	-	-
Donor cause of death (ref.: Cerebrovascular accident)				
Traumatic	0.95 (0.51 - 1.76)	0.87	-	-
Other	0.64 (0.20 - 2.07)	0.46	-	-
Surgical time, per hour	1.49 (1.23 - 1.82)	<0.001	1.31 (1.05 - 1.64)	0.02
Blood loss, per 1,000mL	1.48 (1.25 - 1.75)	<0.001	1.27 (1.06 - 1.51)	0.01
Cold ischemia time, per min	0.99 (0.98 - 1.01)	0.23	-	-
Warm ischemia time, per min	1.06 (1.01 - 1.10)	0.01	-	-
Red cell transfusion first 48h (ref.: no)	1.32 (0.71 - 2.45)	0.38	-	-

Frozen plasma first 48h (ref.: no)	2.15 (1.13 - 4.12)	0.02	-	-
Acute kidney failure, (ref.: no)	3.16 (1.70 - 5.88)	<0.001	3.96 (1.84 - 8.51)	<0.001
Hepatic artery thrombosis (ref.: no)	1.09 (0.33 - 3.63)	0.88	-	-
Factor V, per U/mL	0.95 (0.93 - 0.96)	<0.001	0.96 (0.94 - 0.98)	<0.001
Abbreviations: OR: Odds ratio; CI: Confidence interval; HCC: Hepatocellular carcinoma; MELD: Model for end-stage liver disease; BMI: Body mass index.				

5.4.3 Survival analysis

For the entire cohort, the 1-, 3- and 6-months graft- and patient-survival were 97%, 84% and 80% and 93%, 89% and 88%, respectively. Between the study groups, patients with Factor V \leq 36.1U/mL had a 1-, 3- and 6-months actuarial survival of 84%, 76% and 76% whereas patients with Factor V $>$ 36.1U/mL had 98%, 95% and 95%, respectively ($p=0.01$). The actuarial 1-, 3- and 6-months graft-survival were 82%, 74% and 74% for the Factor V \leq 36.1U/mL group and 98%, 95% and 95% for the Factor V $>$ 36.1U/mL group, respectively ($p=0.01$). Figure 2 and figure 3 show the graft and patient survival probabilities between the two study groups.

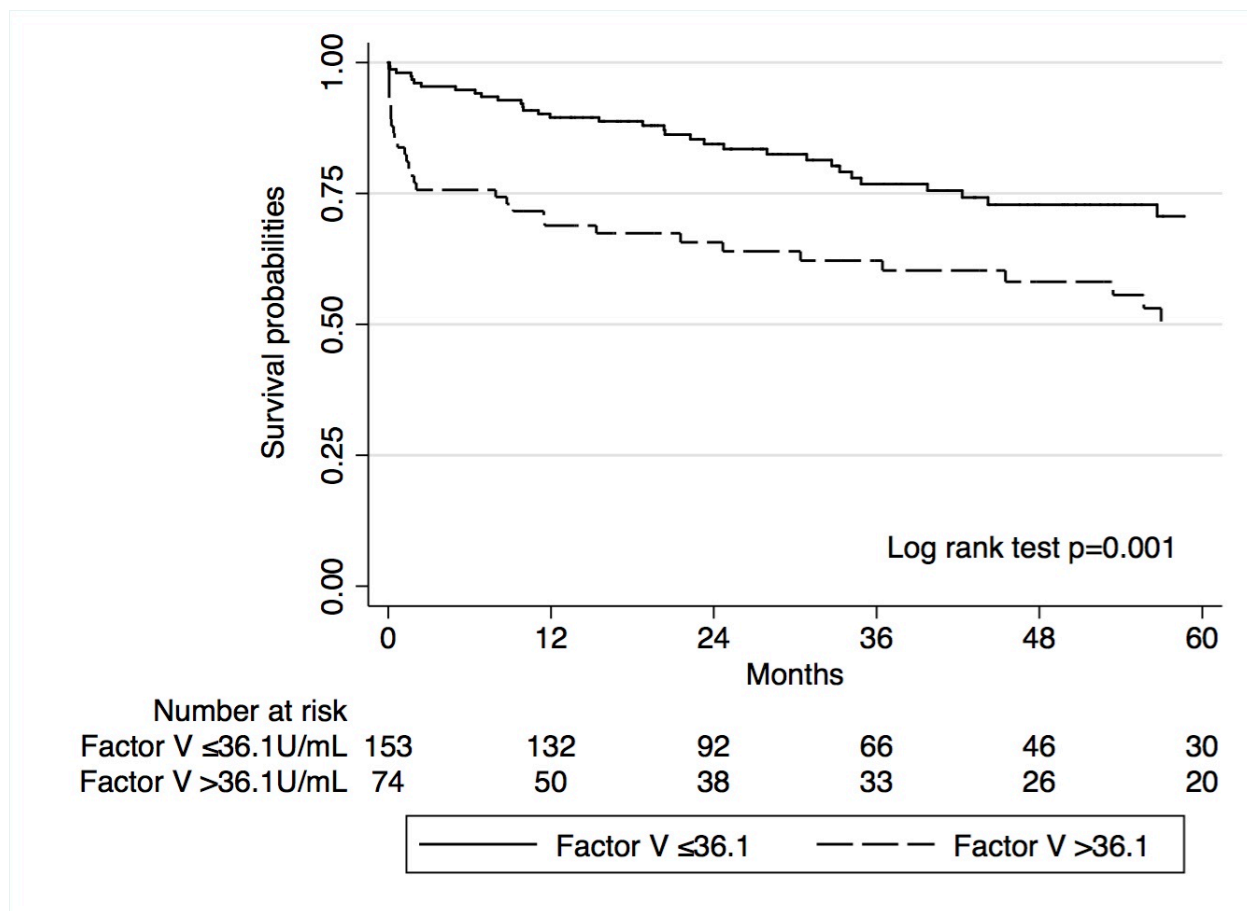


Figure 2: Graft-survival between patients with Factor V level ≤ 36.1 U/mL and > 36.1 U/mL.

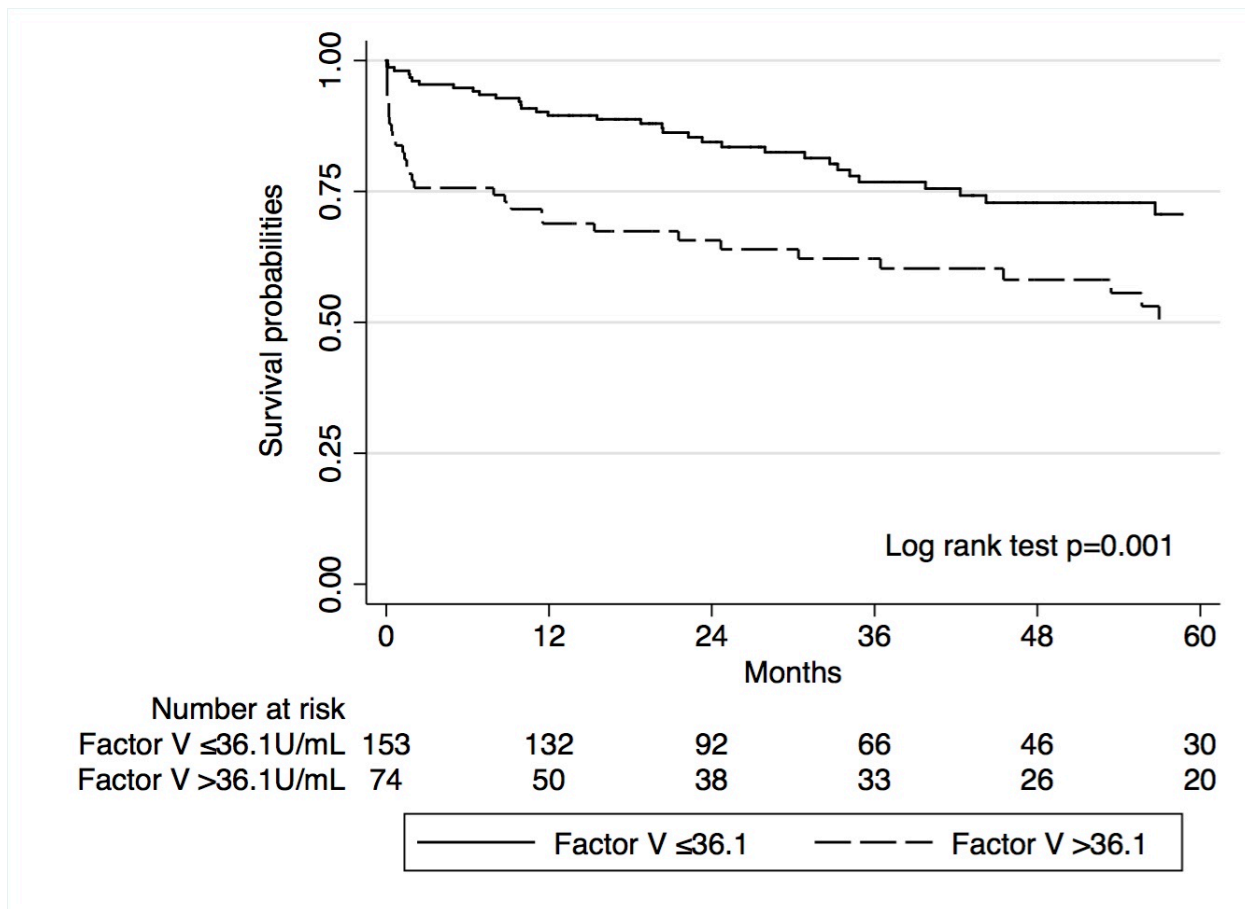


Figure 3: Overall survival between patients with Factor V level ≤ 36.1 U/mL and > 36.1 U/mL.

Variables available at baseline were included in the univariable logistic regression model to predict graft loss within 1-, 3- and 6-months. The results of this analysis are presented in Table 3. The results of the multivariable models to predict graft loss within 1-, 3- and 6-months are presented in Table 4. For 1-month graft loss, EAD had OR of 20.97 (95% CI 2.51 – 175.13) whereas Factor V as continuous (i.e. per U/mL) had OR 0.95 (95% CI 0.92 – 0.99). For 3-month graft loss, Factor V (per U/mL) had a OR of 0.96 (95% CI 0.94 – 0.99), whereas EAD was not significant. And, for 6-month graft loss, Factor V (per U/mL) had a OR of 0.97 (95% CI 0.94 – 0.99) and, again, EAD was not

significant. Other significant predictors of 1-, 3- and 6-months mortality after LT were the donor's BMI, the surgical length of time, the use of FFP and HAT (Table 3).

Table 3: Univariable logistic regression model to predict graft loss after liver transplantation.						
	1 month		3 months		6 months	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
Recipient gender, (ref.: male)	1.10 (0.38 – 3.15)	0.86	0.62 (0.27 – 1.41)	0.25	0.57 (0.25 – 1.27)	0.17
Age, per year	1.01 (0.96 - 1.06)	0.73	0.99 (0.96 – 1.04)	0.94	1.00 (0.96 – 1.03)	0.90
Underlying liver disease (ref.: viral hepatitis)						
Other	0.90 (0.28 – 2.91)	0.86	1.52 (0.64 – 3.61)	0.34	1.42 (0.60 – 3.36)	0.42
HCC, yes	1.39 (0.49 – 3.97)	0.54	0.79 (0.35 – 1.79)	0.58	0.73 (0.33 – 1.63)	0.44
MELD, per unit	0.96 (0.89 - 1.04)	0.37	1.01 (0.96 – 1.06)	0.71	1.01 (0.96 – 1.06)	0.60
Platelets, per 10 ³ /μL	1.01 (0.99 - 1.02)	0.96	1.00 (0.99 – 1.01)	0.87	1.00 (0.99 – 1.01)	0.86
Preoperative creatinine, per mg/dL	1.13 (0.68 - 1.87)	0.64	1.25 (0.85 – 1.84)	0.25	1.26 (0.86 – 1.84)	0.24
Donor gender (ref.: male)	1.13 (0.40 - 3.15)	0.81	1.06 (0.46 – 2.43)	0.88	0.99 (0.44 – 2.24)	0.98
Donor age, per year	1.01 (0.98 - 1.05)	0.37	0.99 (0.97 – 1.02)	0.99	0.99 (0.97 – 1.02)	0.83
BMI donor, per Kg/m ²	0.88 (0.75 - 1.04)	0.14	0.87 (0.76 – 0.99)	0.04	0.88 (0.77 – 1.00)	0.06
Donor cause of death (ref.:						

Cerebrovascular accident)						
Traumatic	0.64 (0.21 – 1.95)	0.44	1.04 (0.45 – 2.43)	0.91	1.16 (0.51 – 2.64)	0.73
Other	0.56 (0.07 – 4.70)	0.60	0.39 (0.05 – 3.15)	0.38	0.39 (0.05 – 3.15)	0.39
Surgical time, per hour	1.51 (1.18 – 1.93)	0.001	1.48 (1.18 – 1.84)	0.001	1.55 (1.23 – 1.94)	<0.001
Blood loss, per 1,000mL	1.28 (1.10 – 1.49)	0.001	1.21 (1.06 – 1.39)	0.01	1.20 (1.05 – 1.38)	0.01
Cold ischemia time, per min	0.99 (0.98 – 1.01)	0.11	0.99 (0.98 – 1.00)	0.08	0.99 (0.98 – 1.00)	0.08
Warm ischemia time, per min	1.04 (0.97 – 1.12)	0.21	1.04 (0.98 – 1.10)	0.16	1.04 (0.99 – 1.10)	0.13
Red transfusion cell first 48h (ref.: no)	1.87 (0.58 – 5.99)	0.29	1.72 (0.69 – 4.28)	0.24	1.83 (0.74 – 4.52)	0.19
Frozen plasma first 48h (ref.: no)	4.81 (1.07 – 21.73)	0.04	5.61 (1.63 – 19.32)	0.01	5.91 (1.72 – 20.28)	0.01
Acute kidney failure, (ref.: no)	2.64 (0.95 – 7.35)	0.06	1.34 (0.56 – 3.17)	0.51	1.25 (0.53 – 2.95)	0.60
Hepatic artery thrombosis (ref.: no)	10.20 (2.92 – 35.62)	<0.001	7.24 (2.28 – 22.95)	0.001	6.86 (2.17 – 21.66)	0.001
EAD (ref.: no)	53.80 (6.92 – 418.13)	<0.001	8.27 (3.37 – 20.30)	<0.001	7.30 (3.06 – 17.40)	<0.001
Factor V, per U/mL	0.92 (0.89 – 0.96)	<0.001	0.95 (0.92 – 0.97)	<0.001	0.95 (0.93 – 0.97)	<0.001

Abbreviations: OR: Odds ratio; CI: Confidence interval; BMI: Body mass index; EAD: Early allograft dysfunction.

Table 4: Multivariable logistic regression model to predict graft loss after liver transplantation.						
Variable	Mortality					
	1 month		3 months		6 months	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
BMI donor, Kg/m ²	-	-	0.83 (0.69 - 1.01)	0.06	0.86 (0.71 - 1.02)	0.09
Surgical time, hours	-	-	1.30 (1.01 - 1.68)	0.04	1.38 (1.07 - 1.79)	0.01
Frozen plasma first 48h (ref.: no)	-	-	3.86 (0.89 - 16.81)	0.07	4.22 (0.97 - 18.37)	0.05
Hepatic artery thrombosis (ref.: no)	-	-	19.33 (3.65 - 102.33)	<0.001	16.90 (3.36 - 84.97)	0.001
EAD (ref.: no)	20.97 (2.51 - 175.13)	0.01	3.23 (0.99 - 10.58)	0.05	2.67 (0.85 - 8.38)	0.09
Factor V (U/mL)	0.95 (0.92 - 0.99)	0.02	0.96 (0.94 - 0.99)	0.02	0.97 (0.94 - 0.99)	0.03

Abbreviations: OR: Odds ratio; CI: Confidence interval; BMI: Body mass index; EAD: Early allograft dysfunction.

5.4.4 Subgroup analysis

We conducted a sensitivity analysis of predictors to mortality among the 88 (39% of the cohort) patients who had AST or ALT >1000U/L within the POD 1. The rationale followed to choose this subgroup was that this sub-population could benefit the most from a biomarker for short-term outcomes after LT. After adjustments for HAT, donor's BMI, EBL, surgical length of time, the use of FFP and EAD; Factor V was a significant predictor of 3-months [OR 0.94 (95% CI 0.89 - 99)] and 6-months [OR 0.94 (95% CI 0.89 - 99)]

mortality. EAD was not a significant predictor of 3-months [OR 3.48 (95%CI 0.37 – 32.98)] and 6-months [OR3.48 (95%CI 0.37 – 32.98)] mortality.

5.5 Discussion

This study has successfully shown that plasmatic Factor V is a continuous biomarker of EAD and a predictor for graft loss after LT. When adjusted for confounders (including EAD), Factor V was a predictor for 3- and 6-months graft loss after LT and EAD has lost its significance. Our sensitivity analysis among patients with AST/ALT >1000U/L has confirmed these results. We have previously showed that factor V levels are related to short-term mortality after LT.¹⁵ However, this is the first time Favor V is compared to a validated criteria for graft dysfunction, showing consistently its value as a biomarker in the early postoperative period after LT. Moreover, we have demonstrated Factor V as a continuous predictor for 1-, 3- and 6-month graft loss. In this regard, Figure 4 shows the incidence of these outcomes according to four Factor V strata. Therefore, the present work has comprehensively shown the potential role of Factor V in the post-LT patient care.

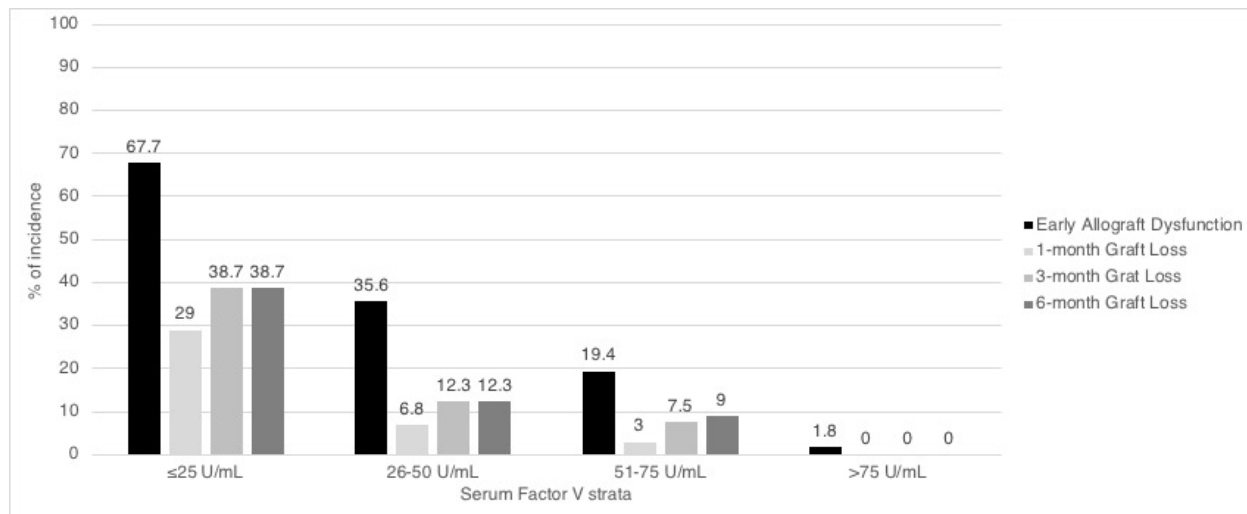


Figure 4: Incidence of early allograft dysfunction, 1-, 3- and 6-month graft loss among plasmasmic Factor V strata.

We have identified three potential advantages in applying Factor V in the early phases of post-LT patient care. First, Factor V level is related to the graft function in the early post-operative course after LT. In fact, this finding is in accordance with the previous reports showing Factor V as a biomarker for hepatic function in acute liver failure.²¹ Second, Factor V was an earlier predictor for the 1-, 3- and 6-months graft loss after LT than the current concept of EAD. The findings in this study suggest that a single Factor V measurement on the POD 1 might be an independent predictor of graft loss after LT, regardless the EAD status. This capability of assessing the liver function very quickly is, most likely, granted by Factor V's short half-life. Lastly, Factor V could be interpreted continuously, therefore, lower levels are related to worse outcomes. In this study, the decreasing of a single Factor V unit per milliliter has represented an increase of 3% in 6-months graft loss risk. The concept of EAD, although valuable, is unable to provide this information. This continuous risk assessment is mainly relevant for patients with

“claudicating” grafts after LT. In this regard, our sensitivity analysis has shown that, among patients with AST/ALT >1000U/L within the POD 1, Factor V is still significant to predict 3- and 6-months mortality. This information might be valuable when considering re-listing a patient with suspected primary graft failure.

Several efforts have been made to develop novel predictors for post-LT mortality.⁸ Jochmans et al. have been recently proposed the model for early allograft function (MEAF) score to predict mortality using laboratory data within 3-days after LT.²² The MEAF score addresses the EAD criteria’s limitation in identifying variances in the risk of mortality after LT among patients with different degrees of graft dysfunction. Nevertheless, MEAF score is based on same laboratory results as EAD (i.e. AST/ALT and INR and TB), and, at least theoretically, has limited capacity to add new information on patients’ outcomes. On the other hand, Factor V, as an entirely novel biomarker, is shown in this works as an accurate predictor for post-LT short-term outcomes. However, comparing Factor V level with the MEAF score or creating a new graft dysfunction score system including Factor V were not the aim of this study. Other studies have proposed the indocyanine green disappearance measure as surrogate of graft function and mortality after LT.^{23,24} A important limitation of the indocyanine green disappearance is the fact that its disappearance rate relies on the hepatic arterial flow. Therefore, the disappearance rate might be affected by common situations on the peritransplantation period such as hemodynamic instability or HAT.⁸ Wu et al. have shown that the lactate clearance rate may be a predictor for poor graft function.²⁵ Unfortunately, they did not assessed outcomes after hospital discharge. Recently, Okumara et al. have validated the

concept of EAD for living donor liver transplantation recipients.²⁶ Interestingly, they did not find transaminases >2,000IU/L within the POD 7 as capable enough to predict graft loss or mortality after LT. This lack of accordance in the EAD concepts for recipients of deceased donors and living donors should be addressed in further studies.

Ex-vivo models for graft preservation have been applied several biomarkers to assess graft impaired viability.²⁷ Brockmann et al. have shown that bile output during ex-vivo perfusion is a predictor of EAD.²⁸ However, Boehnert et al. have demonstrated that biliary flow during ex-vivo perfusion may be biased by the secretion of serum-like fluids by the biliary mucosa, falsely increasing the bile volume.²⁹ For this reason, the authors suggest that not only the quantity, but the composition of bile should be assessed in experimental models of ex-vivo perfusion.²⁷ This kind of measurement might be very laborious to perform and might increase research costs. On the other hand, Jamieson et al. have applied Factor V as biomarker for hepatic function in an experimental animal model.³⁰ They used Factor V as a surrogate for hepatic function to demonstrate that steatotic livers can be preserved in ex-vivo models. This work is in accordance with Knaak et al. that have developed a subnormothermic ex-vivo model and also applied Factor V as the experimental outcome.³¹ Based on Factor V level (and INR), they concluded that their ex-vivo subnormothermic animal model promoted similar liver function between grafts from donation after cardiac death and brain-death cold storage of normal livers. Therefore, these studies have shown that Factor V is useful biomarker for hepatic function in experimental research. This work comes to provide clinical evidence of what is well known from the experimental field. The fact that Factor V has proven its role in the

experimental and in the clinical research makes it an interesting biomarker for translational research protocols.

In this work, we have found other interesting results. The need of FFP transfusion was frequent in both study groups. Theoretically, the peri-operative use of FFP transfusion could influence on the post-operative Factor V levels, as is seen in the Factor V deficiency treatment.³² We have included FFP transfusions in all multivariable regressions to ensure this potential bias would be addressed. In this cohort, patients who had AKF had increased risk of EAD. This relationship between AKF and EAD has been described before. Wadei et al. have shown patients with EAD have higher risk of AKF after LT.³³ In the present work, however, we have shown that patients who present with AKF within 48h after LT have 4 times the odds of develop EAD. In this cohort, the incidence of HAT was 6%. This is in accordance with previous literature.³⁴ The increased risk of graft loss in patients with HAT has already been reported and the findings in the present study confirm this.³⁴ Therefore, our finding that HAT is related to increased risk of graft loss is in accordance with the literature.³⁵

This study has few limitations. Our center does not perform routine graft biopsy; thus, we were not able to include the degree of steatosis in the multivariable regression models. However, we believe this absence does not invalidate our results given all models have included the donor's BMI. Finally, this was not a prospective trial; thus, these results should be interpreted considering the inherent design's limitations. This was a

single centre study and, ideally, these results should be externally validated in larger (or multicenter) prospective design to become widely acceptable.

In conclusion, Factor V is promising biomarker of short-term outcomes after LT. When adjusted for confounders, Factor V was a continuous predictor for graft loss after LT, regardless the EAD status. The development of this promisor biomarker may allow earlier interventions for patients with post-transplantation graft dysfunction and also may be useful in translational research. Further studies should be done to corroborate these findings.

References:

1. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):e11-22.
2. Northup PG, Intagliata NM, Shah NL, Pelletier SJ, Berg CL, Argo CK. Excess mortality on the liver transplant waiting list: unintended policy consequences and Model for End-Stage Liver Disease (MELD) inflation. *Hepatology.* 2015;61(1):285-291.
3. Sapisochin G, Bruix J. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(4):203-217.
4. Emre S, Schwartz ME, Altaca G, et al. Safe use of hepatic allografts from donors older than 70 years. *Transplantation.* 1996;62(1):62-65.
5. McCormack L, Dutkowski P, El-Badry AM, Clavien PA. Liver transplantation using fatty livers: always feasible? *J Hepatol.* 2011;54(5):1055-1062.
6. Mateo R, Cho Y, Singh G, et al. Risk factors for graft survival after liver transplantation from donation after cardiac death donors: an analysis of OPTN/UNOS data. *Am J Transplant.* 2006;6(4):791-796.
7. Lee DD, Singh A, Burns JM, Perry DK, Nguyen JH, Taner CB. Early allograft dysfunction in liver transplantation with donation after cardiac death donors results in inferior survival. *Liver Transpl.* 2014;20(12):1447-1453.

8. Bolondi G, Mocchegiani F, Montalti R, Nicolini D, Vivarelli M, De Pietri L. Predictive factors of short term outcome after liver transplantation: A review. *World J Gastroenterol.* 2016;22(26):5936-5949.
9. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl.* 2010;16(8):943-949.
10. Jochmans I, Fieuw S, Monbaliu D, Pirenne J. "Model for Early Allograft Function" Outperforms "Early Allograft Dysfunction" as a Predictor of Transplant Survival. *Transplantation.* 2017;101(8):e258-e264.
11. Krueel CR, Chedid A, Grezzana-Filho T, Leipnitz I. Can we go further in translational medicine with silver-standard criteria for early allograft dysfunction? *Liver Transpl.* 2014;20(4):500-501.
12. Royston P, Altman DG, Sauerbrei W. Dichotomizing continuous predictors in multiple regression: a bad idea. *Stat Med.* 2006;25(1):127-141.
13. Huang JN, Koerper MA. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia.* 2008;14(6):1164-1169.
14. Camire RM. A new look at blood coagulation factor V. *Curr Opin Hematol.* 2011;18(5):338-342.
15. Zulian MC, Chedid MF, Chedid AD, et al. Low serum factor V level: early predictor of allograft failure and death following liver transplantation. *Langenbecks Arch Surg.* 2015;400(5):589-597.

16. von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Int J Surg*. 2014;12(12):1495-1499.
17. Rahman S, Davidson BR, Mallett SV. Early acute kidney injury after liver transplantation: Predisposing factors and clinical implications. *World J Hepatol*. 2017;9(18):823-832.
18. Schumann R, Mandell MS, Mercaldo N, et al. Anesthesia for liver transplantation in United States academic centers: intraoperative practice. *J Clin Anesth*. 2013;25(7):542-550.
19. Adcock DM. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. In. 5th ed. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
20. Ruopp MD, Perkins NJ, Whitcomb BW, Schisterman EF. Youden Index and optimal cut-point estimated from observations affected by a lower limit of detection. *Biom J*. 2008;50(3):419-430.
21. Bernal W, Auzinger G, Dhawan A, Wendon J. Acute liver failure. *Lancet*. 2010;376(9736):190-201.
22. Pareja E, Cortes M, Hervás D, et al. A score model for the continuous grading of early allograft dysfunction severity. *Liver Transpl*. 2015;21(1):38-46.
23. Levesque E, Saliba F, Benhamida S, et al. Plasma disappearance rate of indocyanine green: a tool to evaluate early graft outcome after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009;15(10):1358-1364.

24. Schneider L, Spiegel M, Latanowicz S, et al. Noninvasive indocyanine green plasma disappearance rate predicts early complications, graft failure or death after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011;10(4):362-368.
25. Wu JF, Wu RY, Chen J, Ou-Yang B, Chen MY, Guan XD. Early lactate clearance as a reliable predictor of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2011;10(6):587-592.
26. Okamura Y, Yagi S, Sato T, et al. Coexistence of Bilirubin ≥ 10 mg/dL and Prothrombin Time-International Normalized Ratio ≥ 1.6 on Day 7: A Strong Predictor of Early Graft Loss after Living Donor Liver Transplantation. *Transplantation.* 2017.
27. Verhoeven CJ, Farid WR, de Jonge J, Metselaar HJ, Kazemier G, van der Laan LJ. Biomarkers to assess graft quality during conventional and machine preservation in liver transplantation. *J Hepatol.* 2014;61(3):672-684.
28. Brockmann J, Reddy S, Coussios C, et al. Normothermic perfusion: a new paradigm for organ preservation. *Ann Surg.* 2009;250(1):1-6.
29. Boehnert MU, Yeung JC, Knaak JM, Selzner N, Selzner M. Normothermic acellular ex vivo liver perfusion (NEVLP) reduces liver and bile duct in DCD liver grafts. *Am J Transplant.* 2013;13(12):3290.
30. Jamieson RW, Zilvetti M, Roy D, et al. Hepatic steatosis and normothermic perfusion-preliminary experiments in a porcine model. *Transplantation.* 2011;92(3):289-295.
31. Knaak JM, Spetzler VN, Goldaracena N, et al. Subnormothermic ex vivo liver perfusion reduces endothelial cell and bile duct injury after donation after cardiac death pig liver transplantation. *Liver Transpl.* 2014;20(11):1296-1305.

32. Thalji N, Camire RM. Parahemophilia: new insights into factor v deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39(6):607-612.
33. Wadei HM, Lee DD, Croome KP, et al. Early Allograft Dysfunction After Liver Transplantation Is Associated With Short- and Long-Term Kidney Function Impairment. *Am J Transplant.* 2016;16(3):850-859.
34. Bekker J, Ploem S, de Jong KP. Early hepatic artery thrombosis after liver transplantation: a systematic review of the incidence, outcome and risk factors. *Am J Transplant.* 2009;9(4):746-757.
35. Stewart ZA, Locke JE, Segev DL, et al. Increased risk of graft loss from hepatic artery thrombosis after liver transplantation with older donors. *Liver Transpl.* 2009;15(12):1688-1695.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Disfunção do enxerto representa uma importante causa de morbimortalidade em pacientes submetidos a transplante hepático. Embora o uso de enxertos marginais tenha de ser empregado para reduzir a escassez de enxertos, essa estratégia pode aumentar a incidência de DPE. Testes diagnósticos para identificação precoce de pacientes em mais alto risco de desenvolver perda do enxerto são muito valiosos na medida que permitiriam a intervenção mais precoce, potencialmente salvando vidas.

O presente estudo veio para corroborar a importância do uso do Fator V como mais uma ferramenta no cuidado do paciente em pós-operatório de transplante hepático. Demonstramos que Fator V é capaz de prever DPE com boa acurácia. Também foi capaz de identificar pacientes em risco de perda do enxerto mesmo quando o conceito mais utilizado de DPE apresenta-se negativo.

Esses resultados devem ser encarados com parcimônia até que estudos prospectivos e preferencialmente multicêntricos validem os resultados aqui apresentados. Estudos que possam conciliar dosagens de Fator V com outras variáveis representativas da função do enxerto também podem ser úteis para o desenvolvimento de um novo escore de prevenção de desfechos adversos após o transplante hepático. Em conclusão, a busca pelo aprimoramento do cuidado aos pacientes submetidos a transplante hepático passará necessariamente pelo melhor entendimento a respeito da disfunção do enxerto e seu mais precoce diagnóstico.