



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

ESCOLA DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

QUALIFICAÇÃO PARA DEFESA DE MESTRADO

**ANÁLISE PROSPECTIVA DE CONCORDÂNCIA ENTRE UM MÉTODO
VISUAL ESTANDARDIZADO E PATOLOGIA NA ESTRATIFICAÇÃO DA
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA EM ENXERTOS
HEPÁTICOS CADAVERÍCOS AVALIADOS PARA TRANSPLANTE**

MESTRANDO: JOSÉ SAMPAIO NETO

ORIENTADOR: PROF. DR. THYAGO PROENÇA DE MORAES

CURITIBA

2020

JOSÉ SAMPAIO NETO

ANÁLISE PROSPECTIVA DE CONCORDÂNCIA ENTRE UM MÉTODO VISUAL ESTANDARDIZADO E PATOLOGIA NA ESTRATIFICAÇÃO DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA EM ENXERTOS HEPÁTICOS CADAVERÍCOS AVALIADOS PARA TRANSPLANTE

Dissertação apresentada como requisito de Qualificação para Defesa de Mestrado pelo Programa de Graduação em Ciências da Saúde, Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

ORIENTADOR: DR. THYAGO PROENÇA DE MORAIS

CURITIBA

MAIO / 2020



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL
DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.**

Aos 04 dias do mês de setembro de 2020 às 13:30, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação "ANÁLISE PROSPECTIVA DE CONCORDÂNCIA ENTRE UM MÉTODO VISUAL ESTANDARDIZADO E PATOLOGIA NA ESTRATIFICAÇÃO DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA EM ENXERTOS HEPÁTICOS CADAVERÍCOS AVALIADOS PARA TRANSPLANTE" apresentado por José Sampalo Neto para obtenção do título de mestre; Área de concentração: Medicina e áreas afins.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Thyago Proença de Moraes – Presidente (PUCPR)	
Prof. Dr. Paulo Gustavo Kotze (PUCPR)	
Prof. Dr. Jean Rodrigo Tafarel (UFPR)	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Thyago Proença de Moraes Conceito: APROVADO
Prof. Dr. Paulo Gustavo Kotze Conceito: APROVADO
Prof. Dr. Jean Rodrigo Tafarel Conceito: APROVADO

Parecer Final: APROVADO

Observações da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Thyago Proença de Moraes
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena
Coordenadora do PPGCS-PUCPR

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS.....	7
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 - INTRODUÇÃO.....	11
2 - JUSTIFICATIVA.....	15
3 - OBJETIVOS	16
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	16
3.2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	16
4 - MÉTODOS.....	17
4.1 - DESENHO DO ESTUDO.....	17
4.2 - CÁLCULO DO TAMAHO AMOSTRAL.....	23
4.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
4.4 - TERMO DE CONSENTIMENTO.....	25
5 - ARTIGO EM INGLÊS.....	26
6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
7 - BIBLIOGRAFIA.....	60
8 - ANEXOS.....	63

LISTA DE TABELAS:

TABELA 1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	18
TABELA 2. <i>NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE ACITIVITY SCORE (NAS)</i>	19
TABELA 3. CLASSIFICAÇÃO DE KLEINER PARA FIBROSE HEPÁTICA.....	20
TABELA 4. <i>VISUAL LIVER SCORE (VLS)</i>	21
TABELA 5. COMPARATIVO ANALÍTICO ENTRE VLS E NAS.....	23
TABELA 6. COMPARATIVO ENTRE COMPONENTE COR DO VLS E GRADUAÇÃO DE ESTEATOSE PELO NAS, PARA FINS DE ANÁLISE.....	23

LISTA DE FIGURAS:

FIGURA 1. COMPARAÇÃO DO VLS COM ACHADOS HISTOLÓGICOS.....22

FIGURA 2. TESTE DE MCNEMAR PARA AMOSTRAS GRANDES.....24

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS:

AVEh: acidente vascular encefálico hemorrágico

AVEi: acidente vascular encefálico isquêmico

BHIO: biópsia hepática intraoperatória

CET/PR: Central Estadual de Transplantes do Paraná

DHGNA: doença hepática gordurosa não-alcoólica

DM: diabetes mellitus

DP: desvio padrão

DVA: droga vasoativa

EHI: encefalopatia hipóxico-isquêmica

EHNA: esteato-hepatite não alcoólica

GGT: gama glutamil transferase

HAS: hipertensão arterial sistêmica

HMAC: Hospital e Maternidade Angelina Caron

HSA: hemorragia subaracnóide

IMC: índice de massa corpórea

Na: sódio

NAS: *Non alcoholic Fatty Liver Disease Acitivity Score*

PCR: parada cardiorrespiratória

TCE: traumatismo cranioencefálico

TGO: transaminase glutâmico oxalacética

TGP: transaminase glutâmico pirúvica

THO: transplante hepático ortotópico

UTI: unidade de terapia intensiva

VIQ: variação interquartil

VLS: *Visual Liver Score*

VPN: valor preditivo negativo

VPP: valor preditivo positivo

RESUMO

Introdução: A crescente discrepância entre demanda e disponibilidade de órgãos é um dos principais desafios do transplante hepático. Enxertos marginais e doadores com critérios de expansão têm sido considerados para aumentar a oferta e atender um maior número de pacientes esperando por transplante. Doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) é um dos mais importantes definidores de órgãos de critério expandido. O presente estudo propõe que um método de análise visual organizada poderia identificar e classificar corretamente DHGNA, assim como viabilidade do enxerto relacionada a ela, tornando dispensável a biópsia e seus gargalos logísticos, aumentando assim o número de enxertos disponíveis.

Métodos: Imagens fotográficas de alta definição foram tomadas dos enxertos, com condições de luminosidade e distância padronizadas, usando o mesmo dispositivo, pré e pós perfusão do enxerto. O *Visual Liver Score* (VLS) foi utilizado, com previamente publicado, por 4 cirurgiões de transplante experientes; biópsias coletadas destes órgãos foram analisadas por patologista experiente, de maneira duplo-cega. Foram calculados desempenho do score e concordância interobservadores para detecção e graduação de DHGNA, assim como avaliação de viabilidade.

Resultados: Cinquenta e sete enxertos foram analisados. Proporção considerável dos doadores (59.64%) apresentou ao menos um critério de expansão. Prevalência de DHGNA foi 94.73%, havendo 31.57% de esteato-hepatite *borderline* e 5.26% de esteato-hepatite confirmada. Esteatose foi identificada com acurácia de 48.68% (pré-perfusão) e 64.03% (pós-perfusão). Estratificação da DHGNA foi realizada com acurácia de 49.53% (pré- perfusão) e 46.29% (pós-perfusão). Viabilidade relacionada à DHGNA foi identificada com acurácia de 51.96% (pré-perfusão) e 48.52% (pós-perfusão). Concordância interobservadores foi moderada para VLS total e fraca para componentes individuais do VLS.

Conclusão: Considerando que mesmo um método padronizado não foi confiável para a avaliação visual da DHGNA comparado com a histologia, esforços devem ser realizados para expandir o acesso a patologia pelas equipes captadoras, reconhecendo as questões econômicas e logísticas a serem enfrentadas. Futuros estudos são necessários para entender se o VLS deve ser adaptado ou mesmo excluído no cenário do transplante hepático, assim como para avaliar a importância da ectoscopia relacionada aos resultados clínicos pós-transplante e determinar seu papel na seleção dos enxertos.

ABSTRACT

Introduction: The growing discrepancy between the demand for donated organs and their availability is one of the main challenges of liver transplantation today. Consequently, marginal grafts or organs from donors with expansion criteria have been considered to reduce the shortage and assist a greater number of patients awaiting for a transplant. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most important defining criteria for expanded criteria organs. The present study proposes that an organized visual analysis method could correctly identify and classify NAFLD and organ viability related to it, without the need for liver biopsy and its logistical concerns, thus increasing the number of available grafts.

Methods: Pictures were taken from the grafts at standardized distance and light conditions, using the same register device, pre and post organ perfusion. The Visual Liver Score (VLS) was applied, as previously published, by four experienced transplant surgeons; biopsies taken from these grafts were analyzed by an experienced pathologist, in a double-blind design. Score performance and interobserver agreement for NAFLD detection and grading, as graft viability evaluation, were calculated.

Results: Fifty seven grafts were analyzed. A considerable proportion (59.64%) of donors presented at least one previous expansion criteria. Prevalence of NAFLD was 94.73%, with 31.57% borderline NASH and 5.26% NASH. Steatosis was identified with 48.68% (pre perfusion) and 64.03% (post perfusion) accuracy. NAFLD stratification was performed with 49.53% (pre perfusion) and 46.29% (post perfusion) accuracy. Viability related to NAFLD was identified with 51.96% (pre perfusion) and 48.52% (post perfusion) accuracy. Interobserver agreement was moderate for total VLS and poor on individual components of VLS.

Conclusion: As even a standardized method was not reliable enough for visual evaluation of NAFLD compared to pathology, efforts should be performed to expand access to pathology by procurement teams, recognizing the logistic and economic problems to be solved. Further studies are needed to understand whether the VLS needs to be adapted or even excluded in the liver transplant scenario, as to evaluate the importance of endoscopy related with post-transplant clinical outcomes and determine its role in graft selection.

1. INTRODUÇÃO

A crescente discrepância entre a demanda por órgãos doados e sua disponibilidade é um dos principais desafios do transplante hepático atualmente [1]. Por consequência, enxertos marginais ou órgãos de doadores com critérios expandidos têm sido considerados para contornar a escassez e salvar as vidas dos pacientes em fila para transplante. Junto à idade do doador e à estadia hospitalar prolongada, a doença hepática gordurosa não-alcoólica é um dos critérios definidores de órgãos de doadores com critérios expandidos mais importantes. Esteatose leve (<30%) é considerada uma condição transplantável, enquanto a utilização de enxertos com esteatose moderada (30-60%) ou esteato-hepatite é desafiadora [2]. Uma análise publicada do Registro Científico de Receptores de Transplantes dos Estados Unidos da América demonstrou que esteatose > 30% foi um preditor independente de redução de sobrevida de enxerto em 1 ano [3].

A doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) e sua manifestação mais avançada, esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), são de relevância crescente para a comunidade médica. Enquanto a prevalência de doença hepática gordurosa não-alcoólica na população adulta ocidental é estimada em 30%, até 70-80% dos indivíduos obesos têm DHGNA, com 30-40% podendo apresentar EHNA [4]. Diagnosticar doença hepática gordurosa não-alcoólica é desafiador, uma vez que não há sinais precoces óbvios ou testes diagnósticos não-invasivos confiáveis [5,6]. Ainda, a identificação destes pacientes é vital, para que seja instituído tratamento apropriado e vigilância para prevenir a progressão da doença e falência hepática [6].

Apesar da esteatose ser um fator de risco para piores resultados após transplante hepático ortotópico (THO) [3,7,8], a utilização de fígados esteatóticos doados contribui significativamente para a expansão do número de doadores. Paralelamente, a epidemia de diabetes e obesidade no mundo ocidental nas últimas 2 décadas resultou em aumento no número de doadores obesos ou com esteatose [9,10]. Desta forma, a avaliação acurada da DHGNA

é crítica para a seleção destes órgãos de alto risco, sendo que a microscopia de exemplar de biópsia hepática vista por um patologista experiente ainda é o padrão-ouro para a análise da EHNA. Por raramente haver disponibilidade de patologista no momento da captação, muitos centros, incluindo o nosso, dependem da análise ectoscópica de DHGNA e qualidade do órgão realizada pelo cirurgião captador.

Devido à prevalência significativa de doença hepática gordurosa não-alcoólica e à relativa segurança da biópsia hepática intraoperatória (BHIO), biópsias rotineiras em pacientes bariátricos e morbidamente obesos foi advogada durante procedimentos abdominais [11-13]. Estudos longitudinais em populações bariátricas sugerem que a não realização de biópsias de rotina resultam em diagnóstico perdido em 86% dos pacientes com esteato-hepatite não alcoólica e 88% dos casos com fibrose avançada [11].

Contudo, mesmo nestes estudos, as taxas de doença hepática não-alcoólica são baixas, resultando em proporções significativas de biópsias normais sendo feitas. Além disso, os riscos, custos, tempo operatório adicional durante o procedimento, indisponibilidade de patologista para pronta análise e tempo de isquemia fria tolerado pelo enxerto hepático até análise histológica definitiva são questões pertinentes [14], tornando-as uma estratégia pouco prática no cenário do transplante. Estes fatores contribuem para justificar o motivo da maior parte dos cirurgiões de transplante não realizarem biópsia hepática rotineira como fator decisivo para a utilização dos enxertos. Infelizmente, havendo dúvida sobre o acometimento do enxerto por condição patológica e não havendo possibilidade de confirmação histológica, opta-se pela não utilização, diminuindo assim o número absoluto de transplantes realizados.

Há poucos e conflitantes dados sobre a acurácia da avaliação visual na discriminação das doenças hepáticas. Alguns estudos sugerem correlação substancial da inspeção laparoscópica do fígado com diagnóstico histológico [15]. Paralelamente, tentativas de realização de biópsia hepática intraoperatória seletiva por avaliação da aparência hepática foram tidas como inaccuradas e pouco confiáveis [11,12,16]. A metodologia é significativamente

variável entre estudos, não havendo mínima evidência que guie a seleção de pacientes para BHIO no cenário de suspeita intraoperatória de doença hepática gordurosa não-alcoólica, particularmente discernindo esteato-hepatite não alcoólica ou fibrose.

Recentemente foi desenvolvido um escore visual standardizado (*Visual Liver Score – VLS*) para a predição de doença hepática gordurosa não-alcoólica e esteato-hepatite não-alcoólica em pacientes obesos submetidos a cirurgia laparoscópica. Ele propõe uma ferramenta simples, acurada e reproduzível para a avaliação de anormalidades hepáticas difusas incidentalmente encontradas durante uma operação. A performance demonstrada pelo escore composto estruturado foi mais confiável que o uso de componentes individuais ou subjetivos de avaliação. Importaneamente, este escore visual estratificou de maneira confiável os pacientes em baixo, intermediário a alto risco para DHGNA e EHNA, guiando a realização de biópsia hepática intraoperatória. Escores considerados de baixo risco ($VLS \leq 1$) foram associados com histologia favorável, indicando como desnecessária a realização de biópsia hepática, com valor preditivo negativo de 79.8-100%. Alternativamente, apresentou especificidade entre 85.6-94.5% na indicação de pacientes com esteatose significativa, EHNA e fibrose significativa [17].

A correta avaliação da presença de DHGNA com risco para esteato-hepatite é fundamental na decisão de uso de enxertos de doadores com critérios expandidos. Estudos mostram que a associação de critérios de expansão em um mesmo doador, como idade > 60 anos, sódio sérico > 155 mEq/L, tempo de estadia em UTI ≥ 5 dias, tempo de isquemia fria > 12 horas e hipotensão ou drogas vasoativas em vazão alta, podem elevar a probabilidade de disfunção do enxerto hepático de 2.2% na ausência de fatores de expansão para até 30% na presença de 4 ou mais fatores. A probabilidade de não-funcionamento primário do enxerto aumenta de 1.1% para até 40% no mesmo cenário [18].

Avaliando os principais critérios de expansão mencionados na literatura, existe a possibilidade de reversão ou controle de alguns (p.ex. hipernatremia, tempo de isquemia), enquanto outros fatores não são modificáveis, mas são

objetivamente detectáveis (p.ex. idade, tempo de UTI, vazão de drogas vasoativas). Desta forma, torna-se fundamental para a decisão de utilização de um enxerto hepático a correta detecção e estratificação da DHGNA no cenário mundial atual de alta frequência de uso de órgãos de doadores com critérios de expansão, através de método disponível, factível e reprodutível.

2. JUSTIFICATIVA

Ao utilizar um método estruturado para comparar a avaliação visual de DHGNA em enxertos hepáticos considerados para transplante à anatomopatologia, saberemos o desempenho da ectoscopia como ferramenta de análise dos órgãos e o impacto desta sobre o descarte de enxertos viáveis ou utilização de enxertos inviáveis.

3. OBJETIVOS

3.1 – OBJETIVO PRINCIPAL

O objetivo deste estudo é medir a acurácia do método visual *versus* biópsia na estimativa da presença e gravidade de DHGNA em enxertos hepáticos avaliados durante captação de órgãos, utilizando-se para isto de escore visual estandardizado (VLS). A análise quantitativa e qualitativa da DHGNA por um patologista servirá como referência de padrão-ouro.

3.2 - OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Adicionalmente, investigaremos se a estimativa da DHGNA pelos cirurgiões - segundo a sistematização proposta pelo escore:

- correlaciona-se com diferentes graus de esteatose previstos no escore de atividade de DHGNA (*Non alcoholic Fatty Liver Disease Acitivity Score - NAS*);

- tem capacidade de selecionar corretamente os enxertos com viabilidade de utilização, no contexto da DHGNA ($NAS \leq 4$ e $F \leq 1$) vista pela biópsia;

- possui concordância interna entre os avaliadores.

4. MÉTODOS

4.1 – DESENHO DO ESTUDO

O presente projeto obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital e Maternidade Angelina Caron (HMAC), sob o número 91928218.7.0000.5226, sendo adequado à Resolução CNS 466/12.

Entre junho de 2018 e setembro de 2019, todas as doações de doadores após morte encefálica que tiveram captação de fígado pela equipe de transplantes do HMAC foram avaliadas para elegibilidade ao estudo (tabela 1). Uma análise piloto com os primeiros 20 enxertos foi avaliada para cálculo da amostra. Os doadores elegíveis consecutivos foram prospectivamente arrolados e variáveis destes registradas a partir dos relatórios sumarizados de doação (anexo 1), em formulário eletrônico. A partir desses dados, investigamos a frequência de fatores de risco para DHGNA e dos principais critérios de expansão para transplante hepático: (1) idade > 60 anos, (2) estadia em UTI > 5 dias, (3) Sódio sérico > 155 mEq/L, (4) hipotensão ou alta vazão de drogas vasoativas.

Cada enxerto hepático arrolado foi avaliado visualmente por 4 cirurgiões experimentados em captações de órgãos do HMAC a partir de registro fotográfico de alta resolução (8 megapixels) tomado no hospital onde encontra-se o doador, no momento da captação de órgãos realizada pela equipe do HMAC, quando esta foi acionada, segundo priorização conforme lista da Central Estadual de Transplantes. O registro foi tomado a 15 cm do enxerto, com *flash* do aparelho, sem luz adicional à ambiente, em dois momentos distintos: pré-perfusão e pós-perfusão do enxerto. Da análise visual realizada, foi definido o valor de *Visual Liver Score* por cada um dos avaliadores, nos dois momentos, sendo avaliada estatisticamente a concordância entre estes.

As biópsias colhidas dos enxertos arrolados foram encaminhadas para patologista experiente em momento posterior, sendo identificadas apenas por número sequencial, para manter a imparcialidade de análise.

O estudo possui um desenho duplo-cego: os cirurgiões avaliadores não tiveram informação histológica, assim como o patologista não teve acesso a nenhuma informação clínica do doador; não houve interferência na decisão de uso do enxerto pelo cirurgião captador.

Critérios de inclusão e exclusão

Tabela 1 – Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Idade do doador \geq 18 anos	Doador de transplante intervivos
Ausência de inviabilidade do enxerto por outra causa (p. ex. trauma, cirrose)	Enxerto para transplante multivisceral
Ausência de sorologia positiva para hepatite viral ativa	Enxerto <i>split</i> (órgão bipartido)
Ausência de consumo abusivo de álcool atual ou nos últimos 2 anos - > 21 doses-padrão (14 g de álcool) semanais para homens - > 14 doses-padrão (14 g de álcool) semanais para mulheres	Doação após morte cardíaca

Captação do Fígado

Todas as captações hepáticas foram realizadas segundo técnica estandardizada [19]. Utilizamos exclusivamente solução IGL-1 (Institute Georges Lopez, França) para preservação. Imediatamente após o clampeamento da aorta descendente e transecção da veia cava inferior supra-hepática, é iniciada perfusão com solução IGL-1 resfriada via aorta abdominal. Gelo fragmentado estéril é posicionado em torno do fígado, incluindo o espaço sub-diafragmático, hilo, face anterior e posterior do órgão. Aproximadamente

40 ml/kg de solução IGL-1 são infundidos pela cânula aórtica, enquanto cerca de 10 ml/kg são infundidos diretamente na veia porta do enxerto.

Biópsia Hepática Intraoperatória

Após avaliação macroscópica do órgão pelo cirurgião captador da equipe do HMAC, 2 biópsias hepáticas em cunha com 1 cm³ (2 x 0.5 x 1 cm) cada foram realizadas de maneira estandardizada no lobo esquerdo (segmento 3) e no lobo direito (segmento 5), antes da perfusão dos órgãos. Cada biópsia foi separadamente fixada em formalina 10% até processamento para análise histológica. Um único patologista experiente graduou as biópsias de maneira cega para informações clínicas do doador, de acordo com o escore de atividade de doença hepática gordurosa não-alcoólica (do inglês: *Non alcoholic Fatty Liver Disease Activity Score - NAS*) [10] e a classificação de Kleiner para fibrose hepática [11] (Tabelas 2 e 3). O NAS é um escore composto que varia de 0 a 8 baseado em severidade da esteatose (0-3), severidade da inflamação (0-3) e presença de balonamento hepatocitário (0-2).

Tabela 2 - *Non alcoholic Fatty Liver Disease Activity Score (NAS)*

NAS – Non alcoholic fatty liver disease score	
<i>Grau de esteatose</i>	
0	< 5%
1	5-33%
2	34-66%
3	≥ 66%
<i>Inflamação lobular</i>	
0	Ausente
1	< 2 foci
2	2-4 foci
3	> 4 foci
<i>Balonamento hepatocitário</i>	
0	Ausente
1	Esparsos
2	Difusos
<i>Escore total (0-8) calculado pela soma de escores de esteatose, inflamação lobular e balonamento hepatocitário</i>	
NAS 0-2	Esteato-hepatite descartada
NAS 3-4	Esteato-hepatite inconclusiva
NAS ≥ 5	Esteato-hepatite confirmada

Tabela 3 - Classificação de Kleiner para fibrose hepática

Classificação de Kleiner para fibrose hepática	
<i>Estágio de fibrose</i>	
0	Ausente
F1	Portal/perisinusoidal
F2	Perisinusoidal e portal/peripoortal
F3	Septal ou fibrose em ponte
F4	Cirrose

Um escore total *NAS* ≥ 5 é diagnóstico para esteato-hepatite não-alcoólica; *NAS* 3-4 é indeterminado para esteato-hepatite não-alcoólica e *NAS* 0-2 exclui esteato-hepatite não-alcoólica. É necessário ressaltar que este escore foi desenvolvido primariamente para propósitos de pesquisa e não estritamente para o diagnóstico clínico de esteato-hepatite não-alcoólica [20].

Visual Liver Score

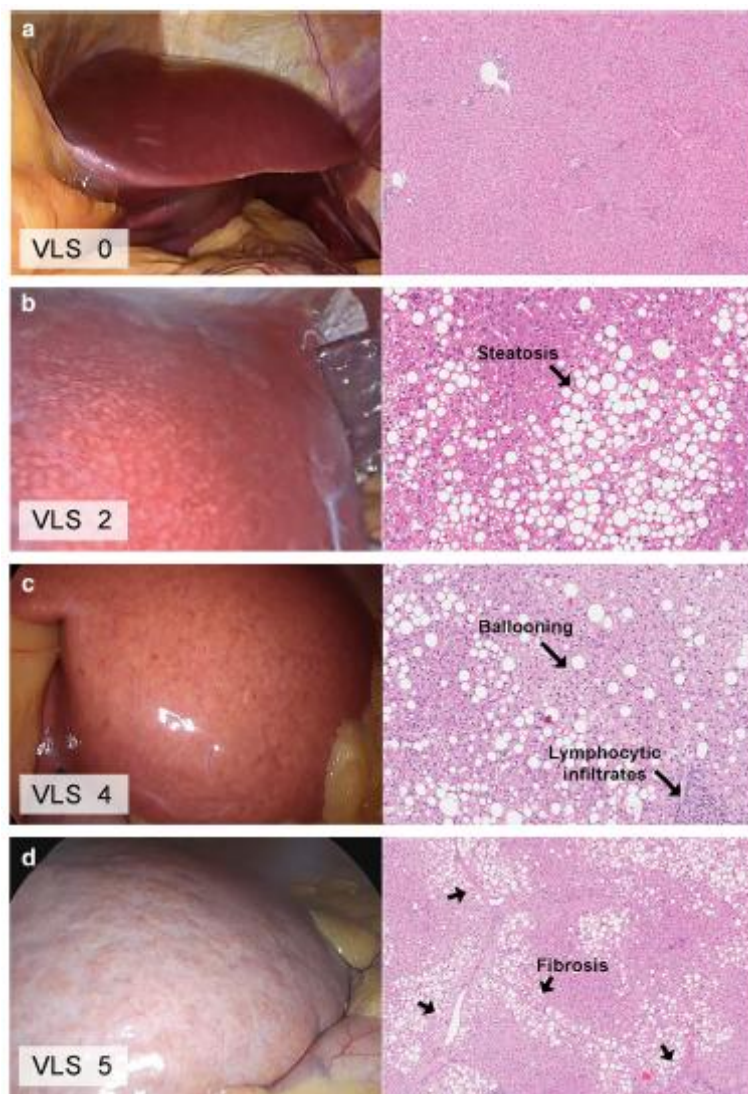
O Escore Hepático Visual (do inglês: *Visual Liver Score* - VLS) foi desenvolvido baseado em critérios prévios com modificações baseadas em outros critérios de avaliação [12,15,21,22]. A aparência do fígado é avaliada nas categorias de cor (0-2), tamanho (0-3) e nodularidade superficial (0-3), sendo o escore total calculado com a soma destas categorias. O VLS foi desenvolvido para ser simples, fácil de aprender e fácil de calcular. O sistema de graduação pode ser visto na Tabela 4, com a Figura 1 mostrando exemplos de escores totais de VLS e achados histológicos associados em quatro pacientes.

Tabela 4 – Visual Liver Score (VLS)

Visual Liver Score – VLS		
Grau	Descrição	Detalhamento
<i>Componente Cor</i>		
0	Cor normal	Marrom-acinzentado
1	Esteatose moderada	Amarelado pontual esparso a moderado
2	Esteatose severa	Amarelado homogêneo
<i>Componente tamanho</i>		
0	Tamanho normal	Bordos finos, sem aumento notável
1	Aumento leve	Bordos rombos, aumento mínimo
2	Aumento moderado	Bordos rombos com aumento moderado, gerando dificuldade de mobilização
3	Aumento severo	Aumento significativo, impedindo mobilização
<i>Componente superfície</i>		
0	Superfície lisa	Superfície lisa, reflexo luminoso claro
1	Nodularidade leve	Superfície finamente irregular, reflexo luminoso pontilhado
2	Nodularidade proeminente	Superfície irregular, reflexo luminoso grosseiramente pontilhado
3	Cirrose	Fígado nodular
<i>Escore total (0-8) calculado pela soma de escores de cor, tamanho e superfície</i>		
VLS ≤ 1		Baixo risco para esteato-hepatite não-alcoólica
VLS 2-3		Moderado risco para esteato-hepatite não-alcoólica
VLS ≥ 4		Alto risco para esteato-hepatite não-alcoólica

Durante a operação de captação, o cirurgião captador registrou fotograficamente o enxerto antes e após a perfusão do órgão, para posterior análise segundo o escore provido pelos avaliadores. Os enxertos foram estratificados em baixo ($VLS \leq 1$), intermediário ($VLS 2-3$) ou alto risco ($VLS \geq 4$) para doença hepática gordurosa não-alcoólica e esteato-hepatite não alcoólica. A pontuação final de VLS definida por cada um dos quatro avaliadores foi utilizada para comparação com o resultado da análise anatomopatológica de cada enxerto.

Figura 1 - Comparação do VLS com achados histológicos. À esquerda, aspecto ectoscópico hepático e respectivas pontuações de VLS atribuídas. À direita, histologia associada.



Fonte: Ooi GJ et al. *Obes Surg.* 2018;28(2):427-436.

Os enxertos serão analisados histologicamente de acordo com a presença de esteatose, esteato-hepatite não-alcoólica e fibrose; as variáveis para análise serão esteatose significativa (S2-3), EHNA ($NAS \geq 5$) e fibrose significativa (F2-4). Comparativamente, sensibilidade e especificidade serão calculadas para o espectro dos componentes do escore VLS e sua pontuação final, separados por categorias de baixo ($VLS \leq 1$), intermediário ($VLS 2-3$) ou alto risco ($VLS \geq 4$) para DHGNA e EHNA (Tabela 5).

Tabela 5 – Comparativo analítico entre VLS e NAS

VLS		NAS	
0-1	Baixo risco para Esteato-hepatite	0-2	Esteato-hepatite ausente
2-3	Risco intermediário para Esteato-hepatite	3-4	Esteato-hepatite indeterminada
≥ 4	Alto risco para Esteato-hepatite	≥ 5	Esteato-hepatite confirmada

Enxertos classificados como de intermediário ou alto risco foram avaliados para a presença de esteatose \geq S2, fibrose \geq F2 ou NAS \geq 5. Para a avaliação da performance do VLS em determinar presença de esteatose no enxerto (e por consequência de DHGNA), a pontuação do componente cor foi separadamente comparada com a graduação histológica quantitativa para esteatose, segundo o componente grau de esteatose do NAS (tabela 6).

Tabela 6 – Comparativo entre componente cor do VLS e graduação de esteatose pelo NAS, para fins de análise

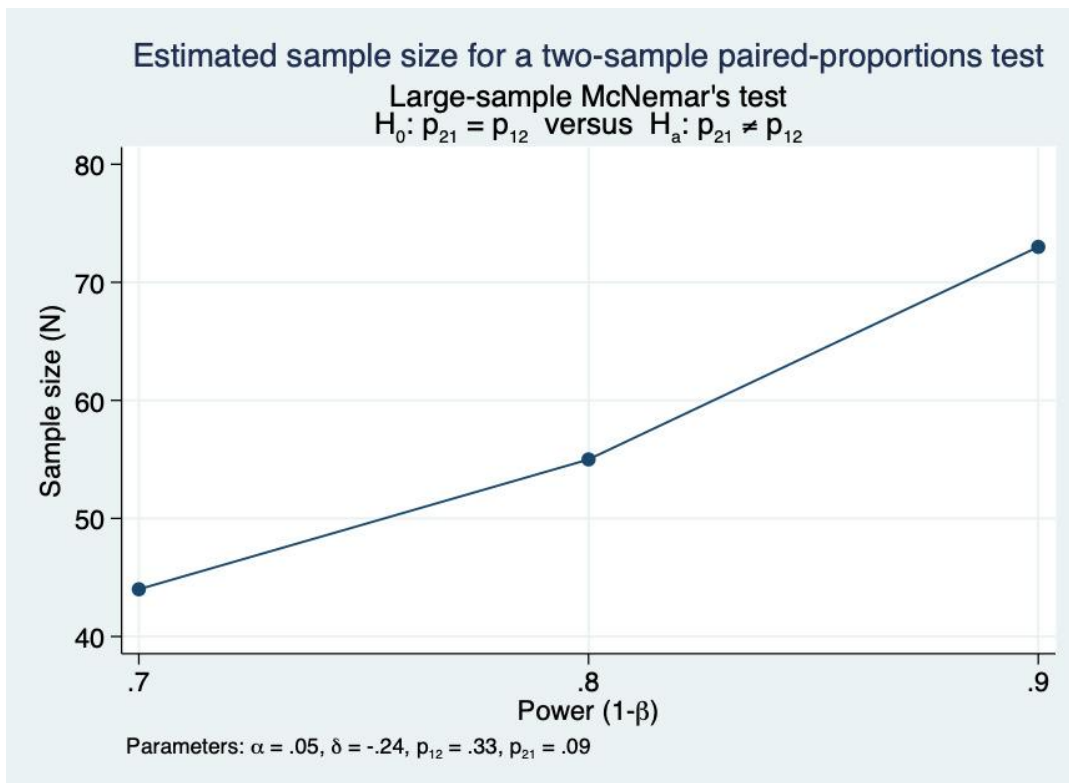
VLS	NAS
Componente cor	Grau de esteatose
0	0
1	1
2	2
	3

4.2 – CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

Para o cálculo amostral realizamos um estudo piloto com 20 casos e inicialmente calculamos o tamanho amostral para diferentes valores de beta (entre 0.70 e 0.90) com um alfa de 0.05 (Figura 2), através de software estatístico. Após encontrar os diferentes valores de amostra, calculamos qual o

tamanho viável compatível com o prazo do programa de mestrado. O alvo amostral inicial foi de 73 amostras, para um beta de 0.9; devido à readequação ao tempo disponível pelo programa e ritmo de obtenção das amostras, concluímos o projeto com 57 amostras viáveis coletadas, o que resultou em beta próximo a 0.8.

Figura 2 – Cálculo amostral pelo teste de McNemar.



4.3 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Variáveis contínuas serão expressadas como médias \pm desvio padrão (DP) para dados paramétricos e como medianas \pm variação interquartil (VIQ) para dados não-paramétricos. Variáveis categóricas serão expressas como números (com porcentagens).

As diferentes análises de performance do escore VLS e do seu componente “Cor”, como acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo foram calculadas tomando-se por base o número de oportunidades em que o escore foi empregado no total, relacionado a todas as inferências em análise pelos 4 observadores.

Para análise da concordância interobservadores no uso do VLS e seus componentes separadamente, foram testados diferentes métodos estatísticos, sendo que mostrou-se mais confiável na análise o Fleiss's Kappa.

4.4 – TERMO DE CONSENTIMENTO

Após análise do projeto e seu respectivo desenho pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Angelina Caron, foi dispensada a necessidade de aplicação de termo de consentimento adicional aos familiares dos doadores arrolados.

Assim foi analisado por já haver autorização prévia, descrita no Termo de Consentimento da Central Estadual de Transplantes do Paraná (CET/PR), para o uso dos órgãos validados quando da análise do processo de doação, prevendo inclusive sua utilização com fins científicos (anexo 2). Além disso, biópsias e registros fotográficos dos enxertos são instrumentos previstos para a correta avaliação dos órgãos considerados para transplante. Ademais, não ocorreu registro que permita a identificação de nenhum dos doadores para a análise fotográfica ou anatomopatológica dos enxertos.

5. ARTIGO EM INGLÊS

A prospective study to analyze the concordance between a standardized visual method with pathology to stratify Non-alcoholic Fatty Liver Disease in cadaveric liver grafts evaluated for transplantation

José Sampaio-Neto^{1,2}; João Eduardo Leal Nicoluzzi^{1,3};
Matheus Takahashi Garcia³; Leandro Billó²; Antônio de
Pádua Peppe-Neto²; Luíza Dall'Asta¹; Thyago Proença de
Moraes^{1,2}

¹*Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, Brazil;* ²*Santa Casa de Misericórdia de Curitiba;* ³*Hospital e Maternidade Angelina Caron*

Running title:

Standardized visual analysis evaluating NAFLD in liver grafts

Corresponding author:

Thyago Proença de Moraes. MD, PhD; School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Rua Imaculada Conceição 1155, Curitiba, PR 80215-901;
Phone/Fax: +55 41 32711657; Email: thyago.moraes@pucpr.br

Keywords: ectoscopy; steatosis; steato-hepatitis; procurement; transplant.

ABSTRACT

Introduction: The growing discrepancy between the demand for donated organs and their availability is one of the main challenges of liver transplantation today. Consequently, marginal grafts or organs from donors with expansion criteria have been considered to reduce the shortage and assist a greater number of patients awaiting for a transplant. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most important defining criteria for expanded criteria organs. The present study proposes that an organized visual analysis method could correctly identify and classify NAFLD and organ viability related to it, without the need for liver biopsy and its logistical concerns, thus increasing the number of available grafts.

Methods: Pictures were taken from the grafts at standardized distance and light conditions, using the same register device, pre and post organ perfusion. The Visual Liver Score (VLS) was applied, as previously published, by four experienced transplant surgeons; biopsies taken from these grafts were analyzed by an experienced pathologist, in a double-blind design. Score performance and interobserver agreement for NAFLD detection and grading, as graft viability evaluation, were calculated.

Results: Fifty seven grafts were analyzed. A considerable proportion (59.64%) of donors presented at least one previous expansion criteria. Prevalence of NAFLD was 94.73%, with 31.57% borderline NASH and 5.26% NASH. Steatosis was identified with 48.68% (pre perfusion) and 64.03% (post perfusion) accuracy. NAFLD stratification was performed with 49.53% (pre perfusion) and 46.29% (post perfusion) accuracy. Viability related to NAFLD was identified with 51.96% (pre perfusion) and 48.52% (post perfusion) accuracy. Interobserver agreement was moderate for total VLS and poor on individual components of VLS.

Conclusion: As even a standardized method was not reliable enough for visual evaluation of NAFLD compared to pathology, efforts should be performed to expand access to biopsy by procurement teams, recognizing the logistic and economic problems to be solved. Further studies are needed to understand whether the VLS needs to be adapted or even excluded in the liver transplant scenario, as to evaluate the importance of ectoscopy related with post-transplant clinical outcomes and determine its role in graft selection.

INTRODUCTION

The growing discrepancy between the demand for donated organs and their availability is one of the main challenges of liver transplantation today [1]. Consequently, marginal grafts or organs from donors with expansion criteria have been considered to reduce the shortage and transplant waiting list [2]. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [3] is one of the most important defining criteria for expanded criteria organs.

Although steatosis is a risk factor for worse results after orthotopic liver transplantation [4-6], the use of steatotic livers contributes significantly to expand donor pool. Therefore, an accurate assessment of hepatic steatosis is critical for the selection of these high-risk organs [7]. Since diagnosing NAFLD is challenging [8,9], microscopic evaluation of a liver biopsy specimen by an experienced pathologist is still the gold standard for NAFLD analysis. Because pathology is seldom available at the time of procurement, many centers, including ours, depend solely on the ectoscopic analysis of steatosis and organ quality performed by procurement surgeon.

Unfortunately, when there is doubt about graft involvement due to a pathological condition and there is no possibility of histological confirmation, discard is decided. There are few conflicting data on the accuracy of visual assessment in the discrimination of NAFLD [10-14]. Methodology is significantly variable between studies, with no evidence to guide the selection of patients for biopsy in the scenario of intraoperative suspicion of NAFLD, particularly discerning NASH or fibrosis.

Recently, a standardized visual score (Visual Liver Score – VLS) was developed to be a simple, accurate and reproducible tool for the assessment of abnormalities related to NAFLD incidentally encountered during laparoscopic surgery. Importantly, VLS stratified the patients in low, intermediate and high risk for NASH more reliably than subjective assessment, guiding the performance of intraoperative liver biopsy [15]. The present study proposes that an organized visual analysis method could correctly identify and classify NAFLD

and organ viability related to it, without the need for liver biopsy, thus increasing the number of available grafts.

METHODS

Ethical approval was obtained at Angelina Caron Hospital Ethics Committee from the Brazilian National Research Ethics Committee (reference number 91928218.7.0000.5226) according to resolution CNS 466/12. The need for an additional informed consent was dismissed because there is a previous authorization for scientific purpose use of the donor grafts in the Paraná State Transplant Central (PSTC) Donation Informed Consent, signed by the donor's family (Figure S2).

This was a prospective study of consecutive eligible liver grafts between June/2018 and November/2019 at the hospitals where the donors were admitted, by Angelina Caron Hospital transplant team, when designated by PSTC, according to the transplant prioritization list.

Inclusion criteria in the study included: (1) age \geq 18 years, (2) absence of non-viability of the graft for another cause (eg. traumatic injury, cirrhosis), (3) absence of positive serology for active viral hepatitis, (4) absence of abusive alcohol consumption in previous 2 years ($>$ 294 g/week for men, $>$ 196 g/week for women). Patients were excluded if they were living, split graft, multivisceral graft or circulatory death donors. Complete register of previous and present medical history and laboratory tests was obtained from PSTC Summarized Donation Report, using an electronic form (Figure S3). From these data, we investigated the frequency of risk factors for NAFLD and the main expansion criteria in liver transplantation: (1) age $>$ 60 years, (2) ICU length of stay $>$ 5 days, (3) Serum sodium $>$ 155 mEq/L, (4) hypotension or high flow of vasoactive drugs.

Procurement Operation

After macroscopic evaluation of the graft by the transplant surgeon, 2 wedge (1 x 0.5 x 2 cm) liver biopsies were taken from segment III and segment V, prior to organ perfusion. A single experienced pathologist graded the biopsies in a

blinded manner, according to the NAFLD activity score (NAS) [9] and Kleiner classification of liver fibrosis [10]. The NAS is a composite score from 0 to 8 based on steatosis severity (0-3), inflammation severity (0-3) and presence of hepatocyte ballooning (0-2). A total NAS score ≥ 5 is diagnostic for NASH; NAS 3-4 is equivocal for NASH and NAS 0-2 is not diagnostic of NASH. Of note, this scoring system was developed primarily for research purposes and not strictly for clinical diagnosis of NASH [16]. Fibrosis was staged from F0-4, with F1 being perisinusoidal or periportal fibrosis, F2 being perisinusoidal and portal/periportal fibrosis, F3 being bridging fibrosis and F4 being cirrhosis.

Pictures were taken from the grafts at standardized distance and light conditions, using the same high resolution register device (8 megapixels), pre and post organ perfusion, for posterior analysis. All original pictures can be found in the supplement file.

Visual Liver Score

The VLS was applied to the grafts in two distinct times: pre and post perfusion, as previously published [15]. The liver appearance was scored based on the categories of *color* (0-2), *size* (0-3) and *surface* nodularity (0-3), with a total score calculated by the sum of these categories. The grading system detailed in Table S1. Four experienced transplant surgeons participated in this study. During the analysis, the surgeons were asked to evaluate the photographic registers and score the liver grafts according to the VLS, pre and post perfusion. The study had a Double-blind design: surgeons had no access to clinical or histological information, just as the pathologist could not see clinical or macroscopic graft information. There was no interference over the decision for using the graft by the procurement surgeon.

Statistical Analysis

Continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation (SD) for parametric data, and median \pm interquartile range (IQR) for non-parametric data. Categorical variables were expressed as numbers (with percentages). Fleiss's Kappa statistic was used for interobserver agreement. Sample size was

calculated based on a pilot study with 20 donors to reach a beta value = 0.8 and alfa = 0.05. We calculated that 55 organs were necessary in the study to answer our question.

Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy were calculated considering the total number of opportunities in which the score or its components (depending on the analysis considered) were used, being the sum of the evaluations made by all four observers.

To evaluate VLS ability to detect and quantitatively stratify steatosis, values attributed to VLS color component were separately compared to the histological quantitative grading, according to NAS steatosis grade component (Table 1).

Table 1 – Analytical comparison between VLS color component and NAS steatosis grade component

VLS	NAS
Color component	Steatosis grade component
0	0
1	1
2	2
	3

Total VLS score was stratified in low ($VLS \leq 1$), intermediate ($VLS 2-3$) or high risk ($VLS \geq 4$) for NASH, as suggested in its original description [15]. This stratification was correlated with NAS score categories for NASH (Table 2).

Table 2 – Analytical comparison between VLS and NAS

VLS		NAS	
0-1	Low risk for NASH	0-2	NAS absent
2-3	Intermediate risk for NASH	3-4	NASH undetermined
≥ 4	High risk for NASH	≥ 5	NASH confirmed

Isolated steatosis was considered quantitatively significant when VLS color component = 2 or NAS steatosis grade ≥ 2 . Grafts were considered to be unviable when attributed a $VLS \geq 4$ or $NAS \geq 5$.

RESULTS

Patients

Sixty two donors were included in the study. Five samples were excluded, 2 due to photographic registers loss and 3 due to incorrect preservation of biopsies. Baseline characteristics of the 57 donors analyzed are shown in Table 3.

A considerable proportion of donors presented at least one previous expansion criteria (59.64%), such as age, ICU stay, high dose of vasoactive drugs or high sodium. Additionally, 70.58% of those patients and 82.6% among those who had no immediately identifiable expansion criteria had overweight, obesity, systemic arterial hypertension, diabetes or dyslipidemia, the most important risk factors for NAFLD.

Table 3 – General characteristics of population

Variable	Patients (n=57)
Demographic	
Age	46.4±15.2
> 60 years	15 (26%)
Male gender	52.5%
Race	
Caucasian	44 (77 %)
Afro descendant	12 (21%)
Native Brazilian	1 (2%)
Alcohol use	19 (33%)
Clinical	
ICU length of stay	
≤ 5 days	38 (67%)
> 5 days	19 (33%)
CPA	11 (19%)
Systolic blood pressure (mmHg)	113.2 ± 19.4
BMI (kg/m ²)	26.2±4.3
Very low weight	2 (4%)
Low weight	1 (2%)
Normal	17 (30%)
Overweight	26 (46%)
Grade 1 obesity	9 (16%)
Grade 2 obesity	2 (4%)
<i>Causa mortis</i>	
Head trauma	14 (25%)
Ischemic Stroke	5 (9%)

Hemorrhagic Stroke	26 (46%)
Hypoxic-ischemic Encephalopathy	6 (11%)
Subarachnoid Hemorrhage	5 (9%)
Meningitis	1 (2%)
Metabolic Comorbidities	
SAH	19 (33%)
Diabetes	8 (14%)
Dyslipidemia	2 (4%)
Vasoactive Drugs	35 (61%)
Norepinephrin or equivalent (mcg/kg.min)	0.33±0.5
High flow (> 0.5 mcg/kg.min)	4 (7%)
Infection treated	18 (32%)
Laboratory	
Serum Sodium (mEq/L)	144.7±8.4
Sodium > 155 mEq/L	6 (11%)
Total bilirubin (mg/dL)	0.53±0.27
ALT (U/L)	84.1±212.1
AST (U/L)	57.9±56.1
GGT (U/L)	112±152.2
Anti-HBc positive	3 (5%)

Abbreviations: ICU, Intensive Care Unit; CPA, Cardiopulmonary Arrest; BMI, Body Mass Index; SAH, Systemic Arterial Hypertension; AST, Alanine Transaminase; AST, Aspartate Transaminase; GGT, Gamma-glutamyl Transpeptidase

Significant fibrosis ($F \geq 2$) was not found in the present population. NAFLD was highly prevalent (94.73%), although the majority of samples (77.19%) had steatosis grade 1, and only 5.26% fulfilled histological criteria for definitive steato-hepatitis (Table 4). Correlation between NAFLD stratification and number of donor-related expansion criteria is showed in Table 5.

Table 4 – Pathology findings

Variable	Samples (n = 57)
NAFLD	54 (94.73%)
Kleiner (fibrosis)	
F0 – Absent	24 (42.1%)
F1 – Peri-portal or perisinusoidal	33 (57.89%)
Type of Steatosis	
Absent	3 (5.26%)
Microgoticular	7 (12.28%)
Macrogoticular	3 (5.26%)
Mixed	38 (66.66%)
Non specified	6 (10.52%)
Grade of Steatosis	
0 - <5%	3 (5.26%)
1 – 5-33%	44 (77.19%)
2 - >33-66%	7 (12.28%)
3 - >66%	3 (5.26%)
Lobular Inflammation	
0 – Absent	45 (78.94%)
1 - <2 foci	12 (21.05%)
Hepatocyte Ballooning	
0 – Absent	10 (17.54%)
1 – Few ballooned cells	35 (61.4%)
2 – Many ballooned cells	12 (21.05%)
NAS	
0-2 – NASH absent	36 (63.15%)
3-4 – <i>Borderline</i> NASH	18 (31.57%)
5-8 – NASH	3 (5.26%)

Table 5 – Correlation between NAFLD stratification and number of previous expansion criteria

NAFLD stratification	Donor-related expansion criteria
NAS 0-2 = 36 grafts	1 criteria = 20 (55.55%) 2 criteria = 2 (5.55%) 3 criteria = 1 (2.77%)
NAS 3-4 = 18 grafts	1 criteria = 8 (44.44%) 2 criteria = 4 (22.22%)
NAS \geq 5 = 3 grafts	1 criteria = 3 (100%)

Visual Liver Score and Assessments

Considering the visual analysis by the evaluators, we noted a trend towards increasing points attributed to *color* score after organ perfusion (Figure 1A). The same trend was not seen when considering *size* scores, *surface* scores or *total* VLS points (Figure 1B).

Figure 1A - Points attributed by evaluators to *color* score

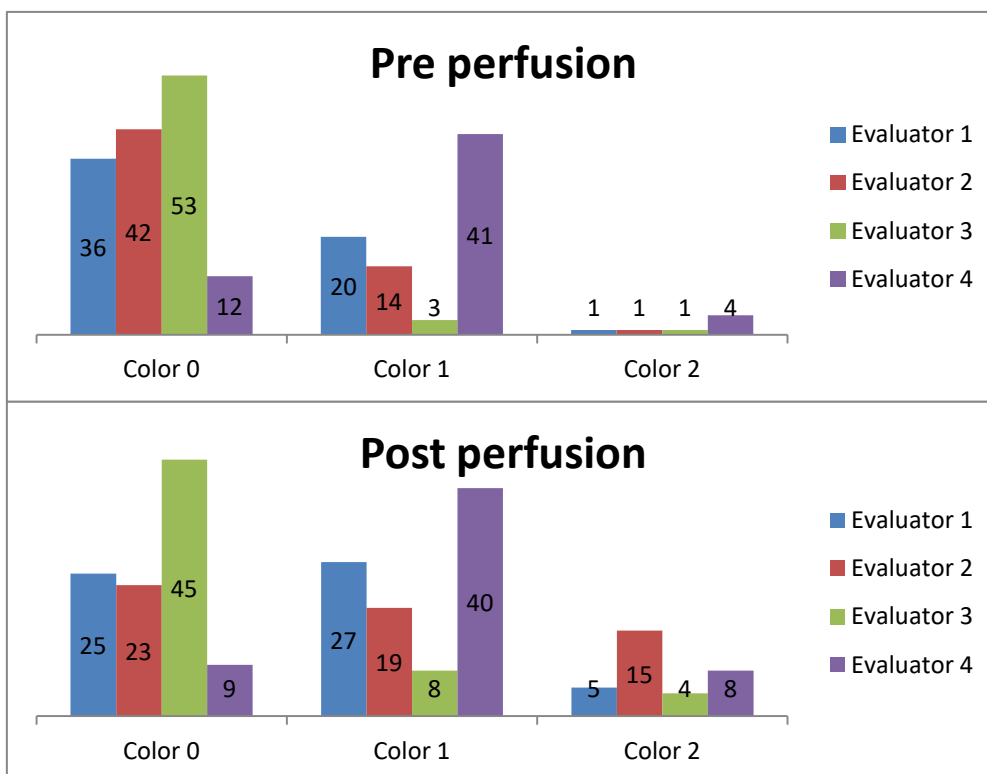
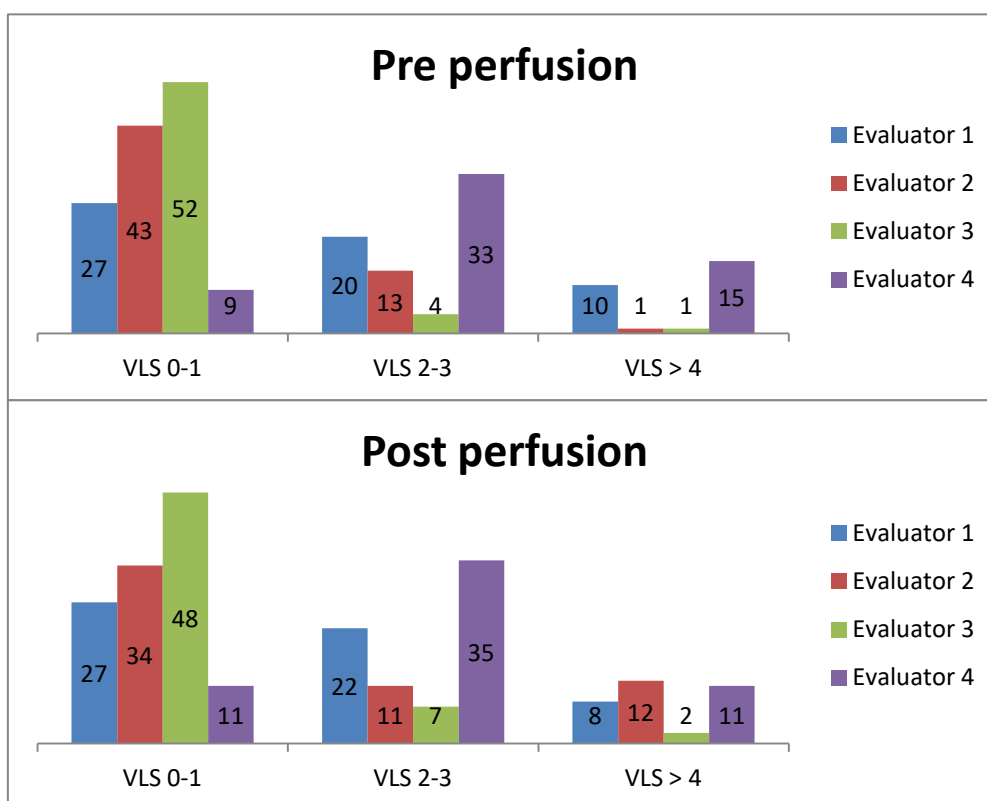


Figure 1B -Total VLS attributed by evaluators



Diagnostic Accuracy

The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy for a variety of threshold values of the total VLS and its assessments are shown in Table 6.

From the analyzed data, the *color* score performance to identify the presence steatosis and its grade was evaluated, pre and post perfusion. In addition, the *color* score isolated capacity to detect significant steatosis (NAS grade of steatosis 2-3, steatosis > 33%) was evaluated.

Considering the 54 grafts presenting with NAFLD, total VLS performance to correctly stratify NAFLD severity was analyzed, correlating it with total NAS risk ranges.

Table 6 – Diagnostic accuracy of various thresholds for total VLS and its assessments

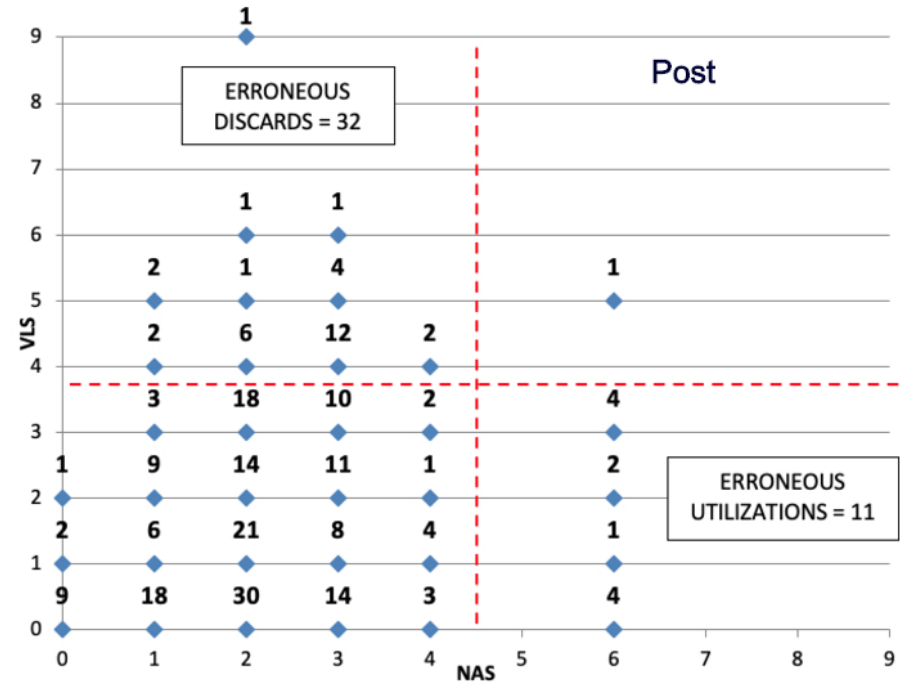
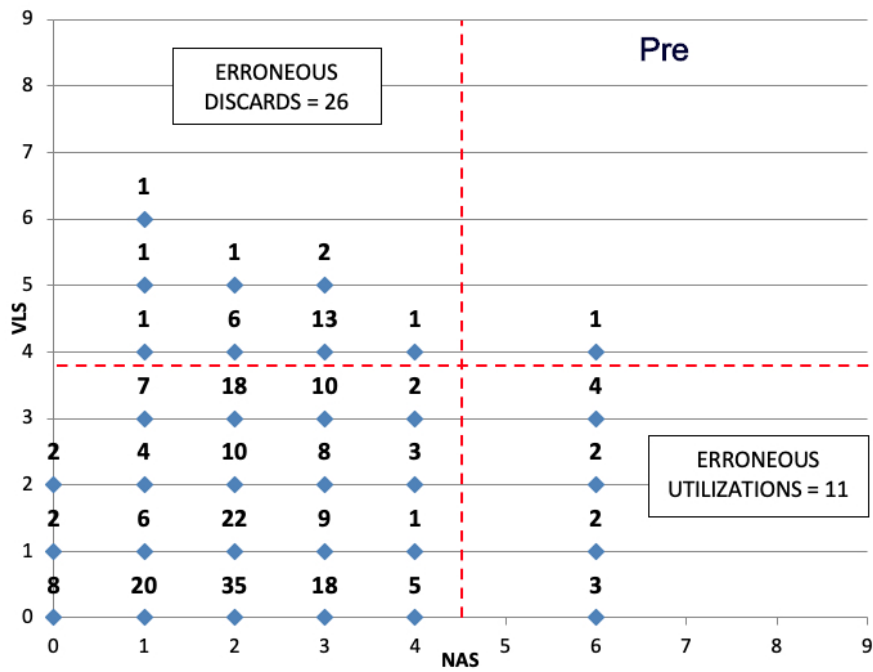
	Pre perfusion					Post perfusion				
	Sens	Spec	PPV	NPV	Acc	Sens	Spec	PPV	NPV	Acc
Steatosis detection (Color 1-2 attributed to NAS grade of steatosis 1-3)	41.48%	82.5%	91.76%	23.07%	48.68%	61.7%	75%	92.06%	29.41%	64.03%
Correct stratification of steatosis by grade					41.22%					50%
- Correct stratification of significant steatosis (≥ 33%)	12.5%	98.9%	71.42%	84.16%		32.5%	89.89%	40.62%	86.2%	
NAFLD severity stratification (NASH absent / undetermined / present)					49.53%					46.29%
- VLS 0-1			68.59%					68.8%		
- VLS 2-3			33.82%					32%		
- VLS ≥ 4			3.7%					3.12%		
Identification of viability (VLS 0-3 attributed to NAS 0-4)	87.25%	8.33%	94.17%	3.77%	51.96%	84.8%	8.33%	94.02%	3.12%	48.52%

Abbreviations: Sens, Sensitivity; Spec, Specificity; PPV, Positive Predictive Value; NPV, Negative Predictive Value; Acc, Accuracy.

To evaluate total VLS ability to determine graft viability, in NAFLD context, unviability thresholds were a VLS ≥ 4 or NAS ≥ 5 . In this scenario, viable grafts would be discarded according to the visual evaluation, by all 4 evaluators (Figure 2).

Conversely, only 3 grafts were considered definitively un-viable according to NAS, with all 4 evaluators attributing them viable total VLS score at some moment of pre or post perfusion analysis (Figure S1).

Figure 2 – Viability analysis pre and post organ perfusion



The red dashed lines divide the population in four groups: lower left quadrants - viable grafts were considered viable by the VLS; lower right quadrants - unviable grafts were considered viable by the VLS; left upper quadrants - viable grafts were considered unviable by the VLS; right upper quadrants - unviable grafts were considered unviable by the VLS. The number over each dot represents the total number of opportunities in which the specific combination of scores occurred. Abbreviations: VLS, Visual Liver Score; NAS, NAFLD Activity Score.

Interobserver Agreement

Different statistic methods were tested to analyze interobserver agreement considering total VLS and its components, as shown in Figures 3 and 4, being Fleiss's Kappa the most reliable model.

The total VLS score had moderate agreement between the four evaluators, being better in post perfusion ($\kappa = 0.48$) than pre perfusion analysis ($\kappa = 0.36$). There was poor agreement on individual components of VLS, tending to be better after organ perfusion (color: $\kappa = 0.11$ and 0.23 ; size: $\kappa = 0.02$ and 0.07 ; surface: $\kappa = 0.01$ and 0.08).

Figure 3 - Total VLS interobserver agreement

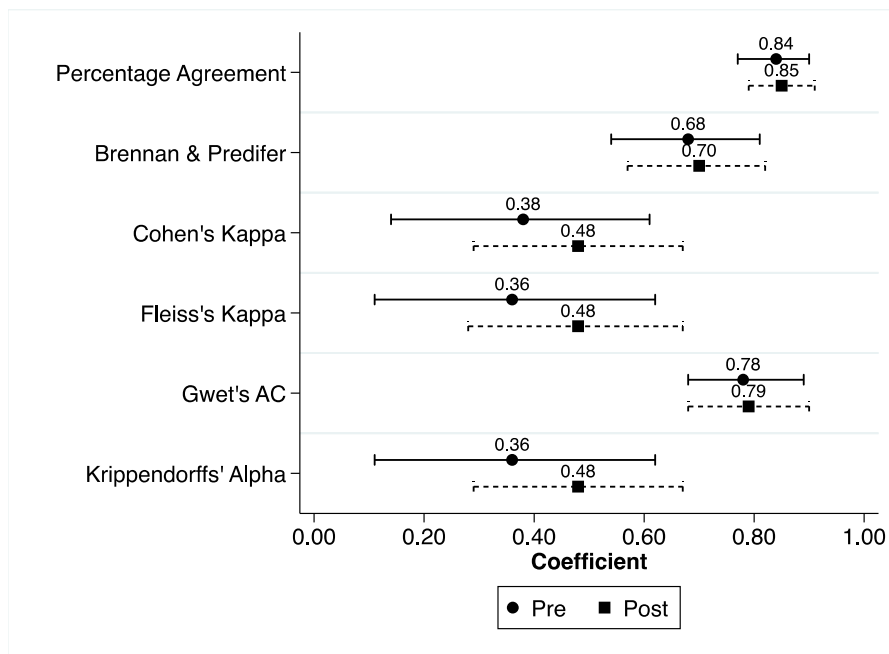
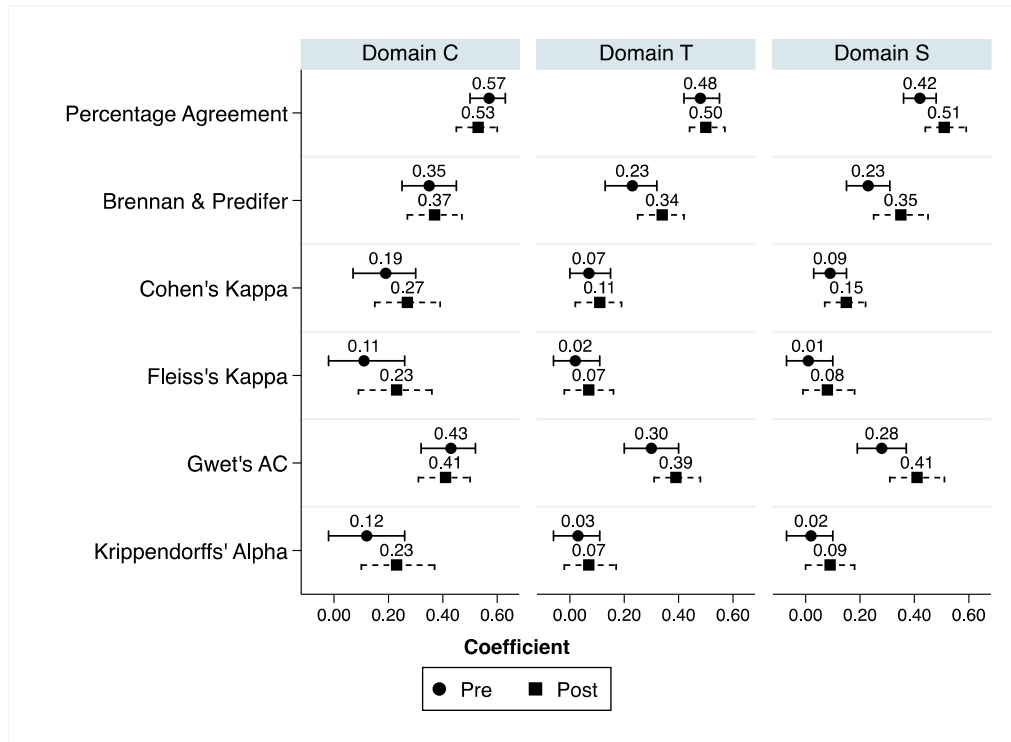


Figure 4 - Interobserver agreement by domains of VLS



DISCUSSION

This study was the first to investigate how accurate a standardized visual method (VLS) is detecting and stratifying NAFLD in liver grafts evaluated during organ procurement surgery when compared to pathology. In summary, our main finding suggests that the biopsy of the organ to be transplanted is mandatory to avoid the discharge of viable organs.

Epidemiological data highlights the frequency of expansion criteria among donors nowadays. More than that, the considerable proportion of donors presenting with risk factors for or confirmed NAFLD confirms how important that donor pool is to maintain a greater organ offer to community, reducing list waiting time. This finding correlates with the fact that Western world's diabetes and obesity epidemic has resulted in an increased number of obese or steatotic donors in last 2 decades [17,18]. Positively, a low frequency of intensive care management related expansion factors (such as hypernatremia or high flow of vasoactive drugs) was identified, probably related to donor screening and care policies implemented in Brazil's Paraná State during last 10 years [19].

Studies show that the association of expansion criteria in the same donor, such as age > 60 years, serum sodium > 155 mEq/L, ICU stay \geq 5 days, cold ischemia time > 12 hours and hypotension or vasoactive drugs in high flow rate, can increase the likelihood of liver graft dysfunction from 2.2% in the absence of expansion factors to up to 30% in the presence of 4 or more factors. The probability of primary graft non-functioning increases from 1.1% to up to 40% in the same scenario [20]. Thus, the correct detection and stratification of NAFLD through an available, feasible and reproducible method is fundamental in the current scenario of high frequency of expanded criteria donors.

Among those with undetermined NAS (scores 3-4), 66.6% (12 out of 18) presented at least one expansion criteria besides NAFLD. Considering that the number of expansion factors is directly related to graft non functioning or dysfunction [21], it is paramount to identify NAFLD in the utilization decision process. Modifiable expansion factors, such as

cold ischemia time, could be intensively managed when detected another constitutional expansion factor.

Longitudinal studies in bariatric populations suggest that when routine biopsies are not performed, 86% of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and 88% of advanced fibrosis diagnosis are missed [10,22]. However, even in these studies, rates of NAFLD more severe than simple steatosis are infrequent, resulting in significant proportion of unnecessary biopsies being performed [23]. In addition, the risks, costs, longer operative time during the procedure, unavailability of pathologist for prompt analysis and time of cold ischemia tolerated by the liver graft until definitive histological analysis are relevant issues [24,25], making them an impractical strategy in the transplant scenario.

The VLS color component showed moderate accuracy in steatosis detection, being better after organ perfusion (64.03% versus 48.68% pre perfusion). Positive predictive values were high both in pre and post perfusion analysis (91.76% and 92.06%), as well as specificity (82.5% and 75%). However, the method was only moderately sensible to detect steatosis (41.48% pre and 61.7% post perfusion), with low negative predictive values in both perfusion scenarios (23.07% pre and 29.41% post). Thus, the method seems reliable when detects NAFLD and classifies grafts as having minimum or absent steatosis, but frequently does not identify fatty infiltration, as previously shown [26].

Regarding the performance in correctly estimate severity of NAFLD, total VLS accuracy was low when compared to pathology (49.53% pre and 46.29% post perfusion). Positive predictive values were progressively lower as higher scores were attributed, (VLS 0-1 = 68.59% pre and 68.8% post perfusion, VLS 2-3 = 33.82% pre and 32% post perfusion, VLS \geq 4 = 3.7% pre and 3.12% post perfusion), suggesting a trend towards overrating NAFLD severity when a worse perception of macroscopic findings happens [23].

Although the VLS was proposed to increase ectoscopy precision when evaluating NAFLD, incorrect analysis of severity was frequent, with the immediate result of organ disposal; all four evaluators classified viable grafts as unviable at some point (pre or

post perfusion). That is the same obstacle when a non standardized visual analysis is undertaken [27].

The color component showed low accuracy to stratify steatosis grading, when fatty infiltration is present (41.22% pre and 50% post perfusion) [11]. Sensitivity to identify steatosis > 33% (correlating color = 2 and NAS steatosis grade = 2-3) is low (12.5% pre and 32.5% post perfusion), suggesting an underestimation of fatty infiltration when it is important.

A remarkable finding was a decrease of the positive predictive value when classifying steatosis > 33% after organ perfusion (71.42% pre and 40.62% post), probably related to a more intense yellowish color noted when blood is flushed away from the graft by preservation solution.

However, the color component was very specific (98.9% pre and 89.89% post perfusion) evaluating grafts as having minimum or absent steatosis and was associated to a high negative predictive value for steatosis > 33% (84.16% pre and 86.2% post perfusion), being reliable when classifying steatosis as non significant.

Total VLS was not capable to exclude unviable grafts effectively (specificity for viability 8.33% pre and post perfusion). Besides that, a significant amount of viable grafts would be excluded with actual VLS cutoff for NASH (negative predictive value for viability 3.77% pre and 3.12% post perfusion), varying from 12 (pre perfusion) to 15% (post perfusion). Although a total VLS = 0-3 presented good sensitivity (87.25% pre and 84.8% post perfusion) identifying viability (NAS = 0-4), its imperfection leads to disposal of viable organs, what does not increase graft offer [27]. Similarly, the high positive predictive value when evaluating viability (94.17% pre and 94.02% post perfusion) provides safety using grafts when indicated, but its imperfection carries the risk of using livers with steato-hepatitis and their consequent high risk for dysfunction [7].

In this study, increasing the cutoff value for viability in 2 units ($VLS \leq 6$) would reduce the number of discarded viable grafts without including unviable organs. However, in

that scenario, there would be no graft selection by the score, supporting universal utilization, with the associated risk of employing unviable livers.

Even carrying out the analysis of the grafts using the same photographic records and standardized score, different evaluators often attribute different characteristics depending on their personal perception of color, luminosity and dimension [28]. In this cohort, poor interobserver agreement was found when considering separate VLS components analysis (color, size and surface), and moderate agreement when considering total VLS analysis. These findings reflect the subjectivity of ectoscopic analysis in the evaluation of NAFLD, evidencing how observers with different biases conclude the final score in a moderately similar way, but with heterogeneous evaluation of the score components.

Despite the strengths of our study we also have some limitations. First, the study was performed in a single center, and despite being the largest transplant center of the state it is necessary to confirm whether the VLS would be equally evaluated by other smaller centers. Second, the visual evaluation was performed using photographs and despite the high quality of the images we don't know if the VLS would be the same if evaluated directly looking at the organ.

CONCLUSION

In conclusion, as the VLS was not reliable enough for visual evaluation of NAFLD compared to pathology, it was unable to exclude the need for liver biopsy to avoid that viable organs are discarded or unviable organs are used. Efforts should be performed to expand access to pathology by procurement teams, recognizing the logistic and economic problems to be solved. Further studies are needed to understand whether the VLS needs to be adapted or even excluded in the liver transplant scenario, as to evaluate the importance of ectoscopy related with post-transplant clinical outcomes and determine its role in graft selection.

AUTHOR'S CONTRIBUTION

All listed authors have contributed and agree upon the content of the final manuscript. JSN, JELN and TPM contributed to study conception. All authors contributed to study design and data acquisition. JSN and TPM performed data analysis.

DISCLOSURES

JSN, JELN, MTG, LB, LD and APPN have no conflict to declare.

TPM is employed by Pontifícia Universidade Católica do Paraná and is recipient of scholarship from the Brazilian Council for Research (CNPq), received consulting fees from Astra Zeneca and Baxter Healthcare, and speaker honoraria from Astra Zeneca, Lilly-Boehringer, Baxter and Takeda.

REFERENCES

1. Wertheim JA, Petrowsky H, Saab S, Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Major challenges limiting liver transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2011;11:1773-1784.
2. Durand F, Renz JF, Alkofer B, Burra P, Clavien PA, Porte RJ, et al. Report of the Paris consensus meeting on expanded criteria donors in liver transplantation. *Liver Transpl* 2008;14:1694-1707.
3. Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25:883–9.
4. Spitzer AL, Lao OB, Dick AA, Bakthavatsalam R, Halldorson JB, Yeh MM, et al. The biopsied donor liver: incorporating macrosteatosis into high-risk donor assessment. *Liver Transpl* 2010;16:874-884.
5. Zamboni F, Franchello A, David E, Rocca G, Ricchiuti A, Lavezzo B, et al. Effect of macrovesicular steatosis and other donor and recipient characteristics on the outcome of liver transplantation. *Clin Transplant* 2001;15:53-57.
6. de Graaf EL, Kench J, Dilworth P, Shackel NA, Strasser SI, Joseph D, et al. Grade of deceased donor liver macrovesicular steatosis impacts graft and recipient outcomes more than the donor risk index. *J Gastroenterol Hepatol* 2012;27:540-546.
7. McCormack L, Dutkowski P, El-Badry AM, Clavien PA. Liver transplantation using fatty livers: Always feasible? *Journal of Hepatology* 2011;54:1055-1062.
8. Ooi GJ, Burton PR, Doyle L, et al. Modified thresholds for fibrosis risk scores in nonalcoholic fatty liver disease are necessary in the obese. *Obes Surg*. 2017;27(1):115–25.
9. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological

Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1592–609.

10. Kleiner DE, Berk PD, Hsu JY, et al. Hepatic pathology among patients without known liver disease undergoing bariatric surgery: observations and a perspective from the longitudinal assessment of bariatric surgery (LABS) study. *Semin Liv Dis* 2014;34(1):98–107.

11. Teixeira AR, Bellodi-Privato M, Carnevali JB, et al. The incapacity of the surgeon to identify NASH in bariatric surgery makes biopsy mandatory. *Obes Surg*. 2009;19(12):1678–84.

12. Chiu CC, LeeWJ,WangW, et al. Correlations of laparoscopy with histology and laboratory studies on liver diseases in bariatric patients. *Obes Surg*. 2008;18(2):204–11.

13. Jalan R, Harrison DJ, Dillon JF, et al. Laparoscopy and histology in the diagnosis of chronic liver disease. *QLM*. 1998;88(8):559–64.

14. Dolce CJ, Russo M, Keller JE, et al. Does liver appearance predict histopathologic findings: prospective analysis of routine liver biopsies during bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2009;5(3):323–8.

15. Ooi GJ, Burton PR, Earnest A, et al. Visual Liver Score to stratify non-alcoholic steatohepatitis risk and determine selective intraoperative liver biopsy in obesity. *Obes Surg*. 2018;28:427-436.

16. Brunt EM, Kleiner DE, Behling C, et al. Misuse of scoring systems. *Hepatology*. 2011;54:369–70.

17. Diamant AL, Babey SH, Wolstein J, Jones M. Obesity and diabetes: two growing epidemics in California. *Policy Brief UCLA Cent Health Policy Res* 2010:1-12.

18. Nguyen DM, El-Serag HB. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am* 2010;39:1-7.

19. Brazilian Registry of Transplantation. Organ Transplantation in Brazil (2011-2018). ABTO. 2018.
20. Briceño, J., Marchal, T., Padillo, J., Solórzano, G., & Pera, C. (2002). Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation*, 74(4), 522-526.
21. Saidi, R et al. Utilization of expanded criteria donors in liver transplantation. *International journal of organ transplantation medicine*. 2013; 4(2), 46.
22. Shalhub S, Parsee A, et al. The importance of routine liver biopsy in diagnosing nonalcoholic steatohepatitis in bariatric patients. *Obes Surg*. 2004;14(1):54–9.
23. Sampaio-Neto J, Nassif AT, et al. Performance of the Bard Scoring System in Bariatric Surgery Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Obes Surg*. 2017;27(2):394-398.
24. Dixon JB, Bhathal PS, O'brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121:91–100.
25. Mahawar KK, Parmar C, Graham Y, et al. Routine liver biopsy during bariatric surgery: an analysis of evidence base. *Obes Surg*. 2016;26(1):177–81.
26. Petrick A, Benotti P, Wood GC, Gerhard GS et al. Utility of Ultrasound, Transaminases, and Visual Inspection to Assess Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Bariatric Surgery Patients. *Obes Surg*. 2015 Dec;25(12):2368-75.
27. Pais, Raluca et al. NAFLD and liver transplantation: Current burden and expected challenges. *Journal of hepatology* vol. 65,6 (2016): 1245-1257.
28. Mollon, J. D., Bosten, J. M., Peterzell, D. H., & Webster, M. A. (2017). Individual differences in visual science: What can be learned and what is good experimental practice?. *Vision research*, 141, 4-15.

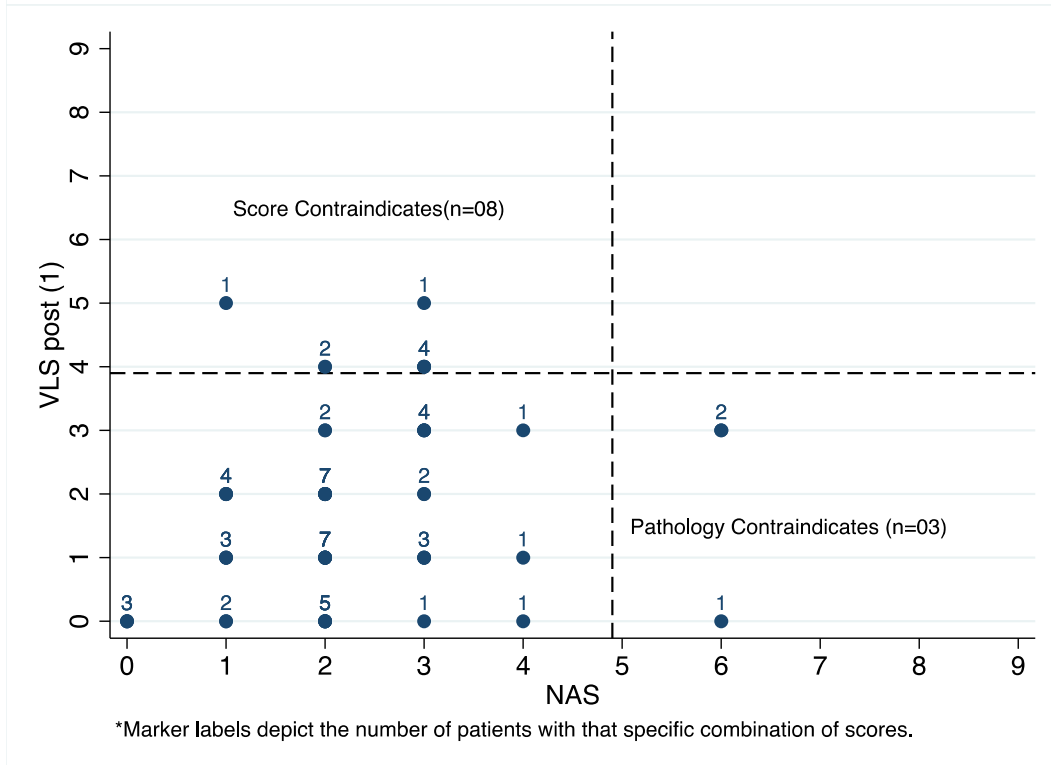
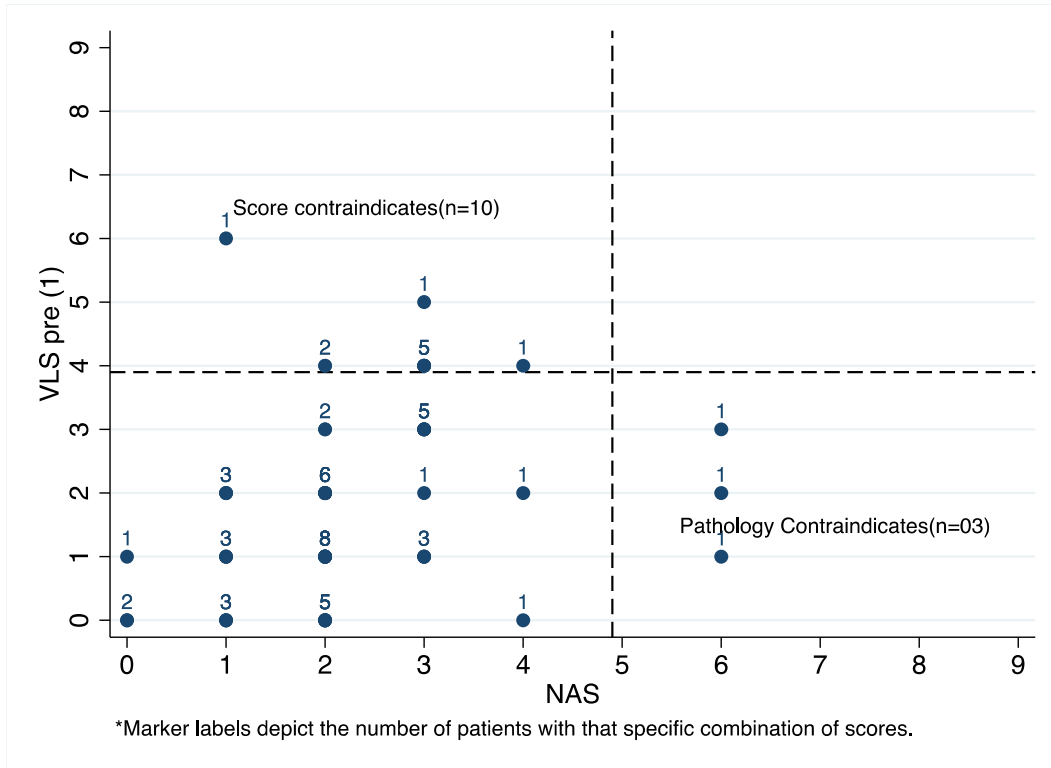
SUPPLEMENT FILE

Table S1 – Visual Liver Score (VLS)

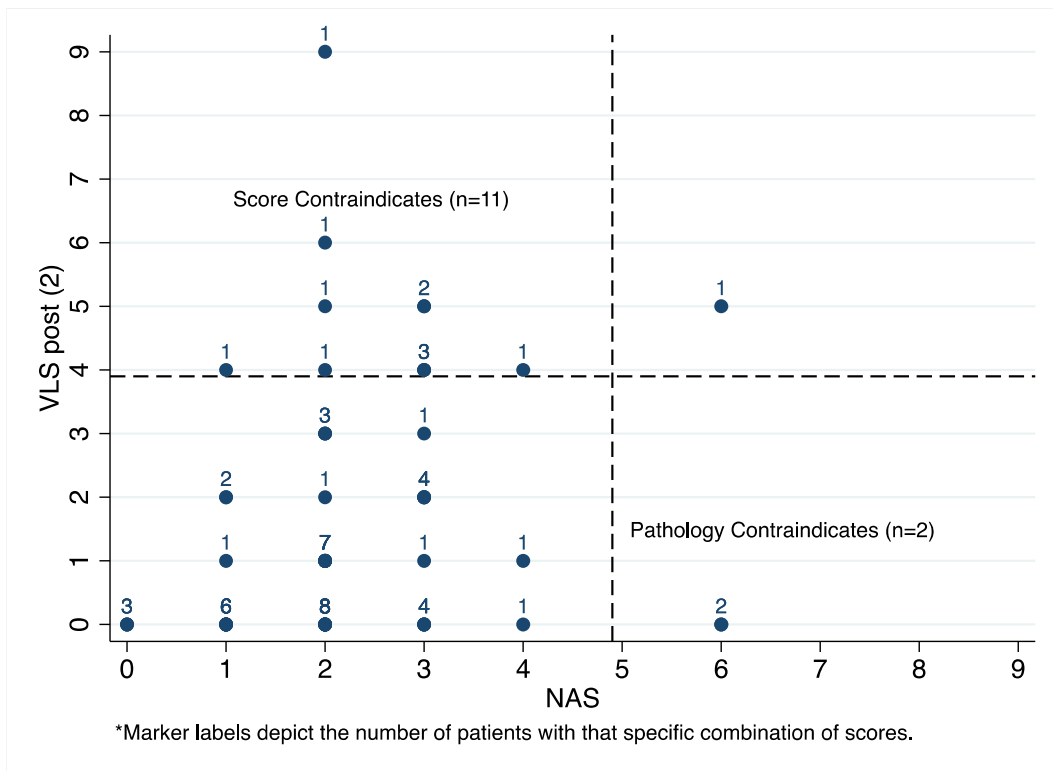
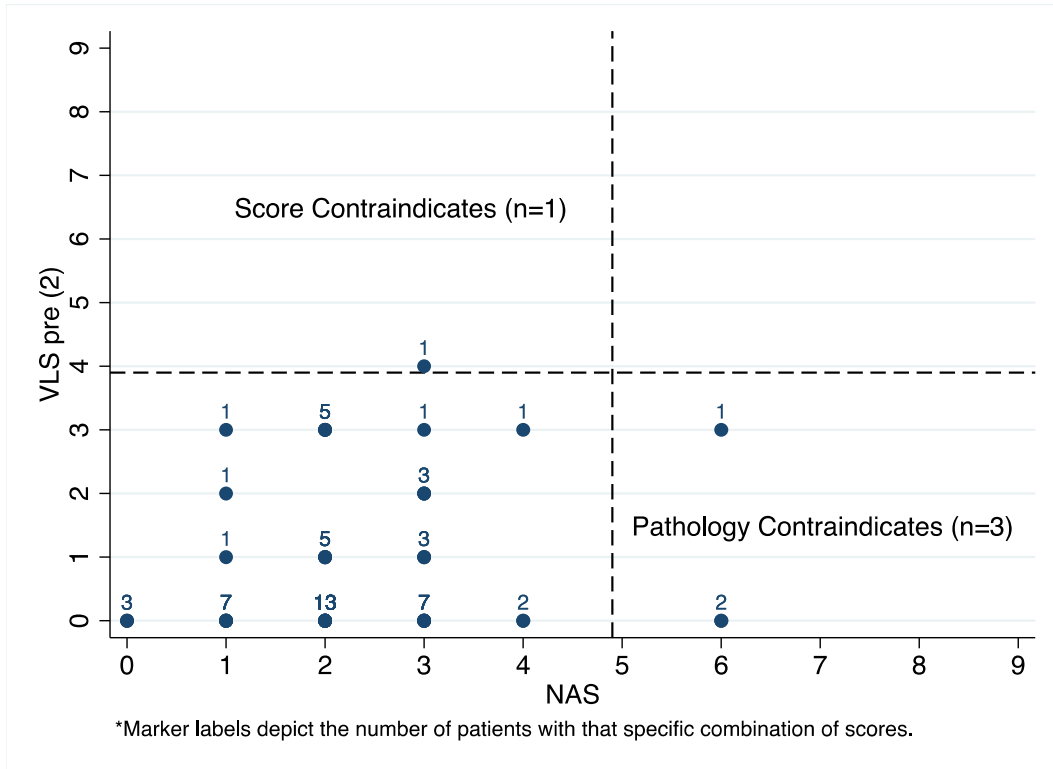
Grade	Description	Details
<i>Color component</i>		
0	Normal color	Tan color
1	Moderate steatosis	Sparse to moderate spotty yellow
2	Significant steatosis	Mostly homogeneous yellow color
<i>Size component</i>		
0	Normal size	Sharp liver edge, no gross enlargement
1	Mild enlargement	Blunted liver edge, minimal liver enlargement
2	Moderate enlargement	Blunted liver edge with moderate liver enlargement, some difficulty with retraction due to size
3	Severe enlargement	Significant liver enlargement, impeding retraction
<i>Surface component</i>		
0	Smooth surface	Smooth surface, clear light reflex
1	Mild nodularity	Fine rough surface, fine spotty light reflex
2	Prominent nodularity	Rough surface, coarsely rough spotty light reflex
3	Cirrhotic	Nodular liver
Total score (0-8) calculated by sum of color, size and surface scores		

Figure S1. VLS by evaluator

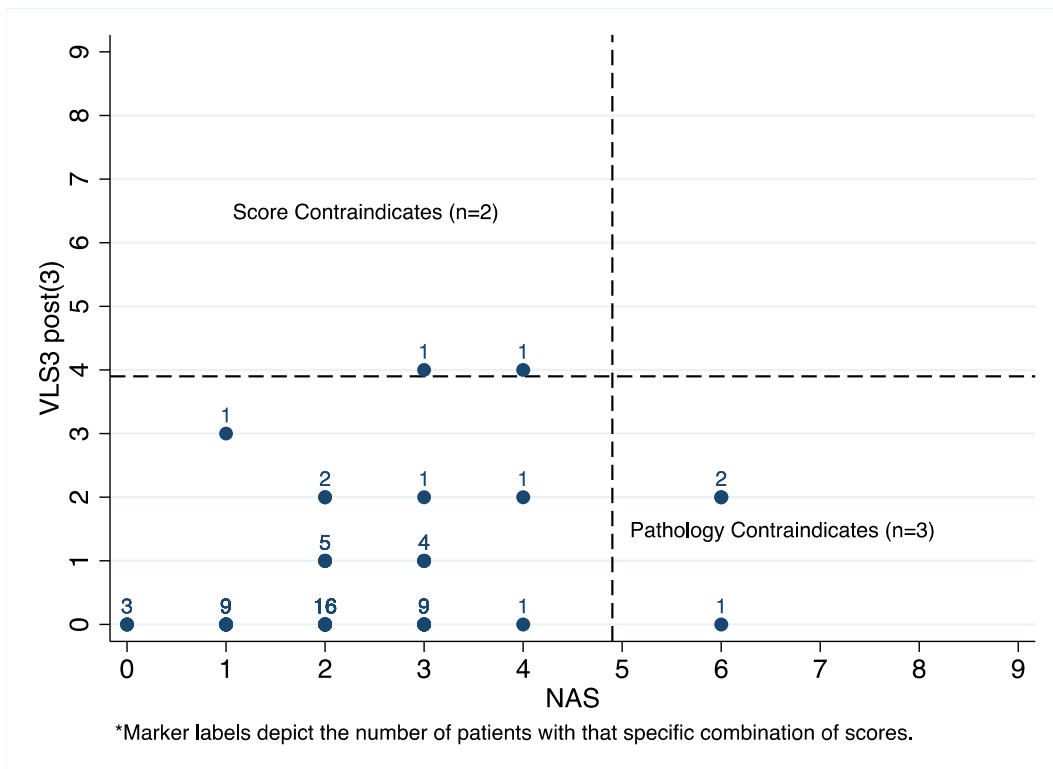
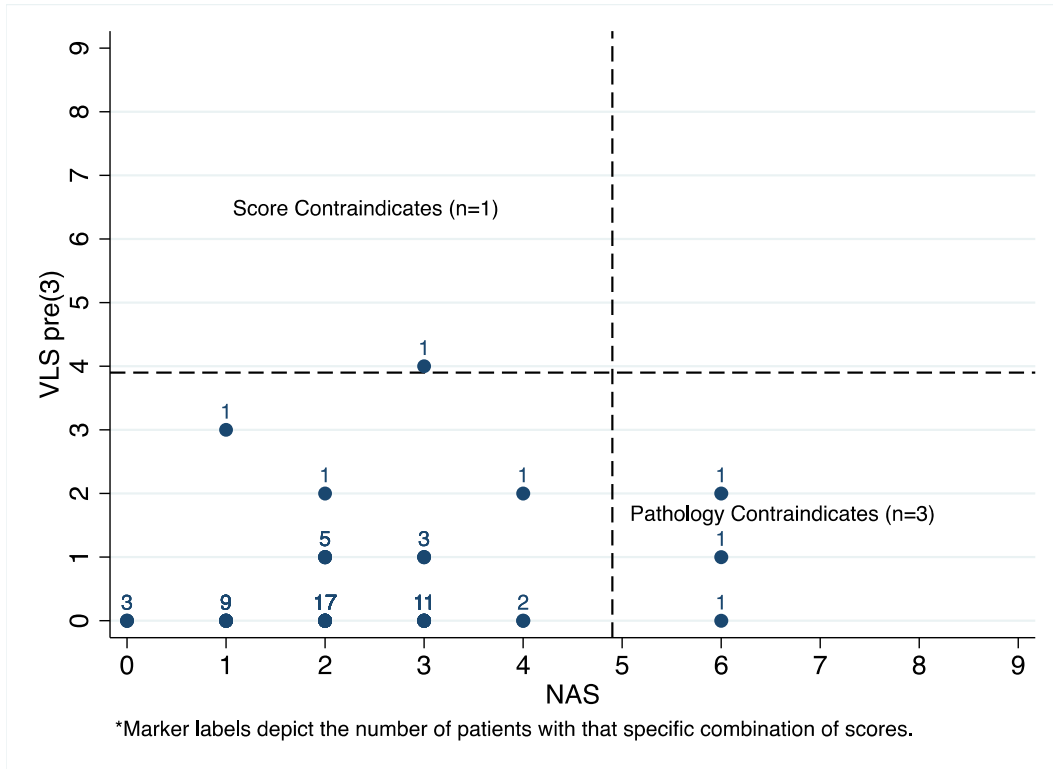
A. Evaluator 1



B. Evaluator 2



C. Evaluator 3



D. Evaluator 4

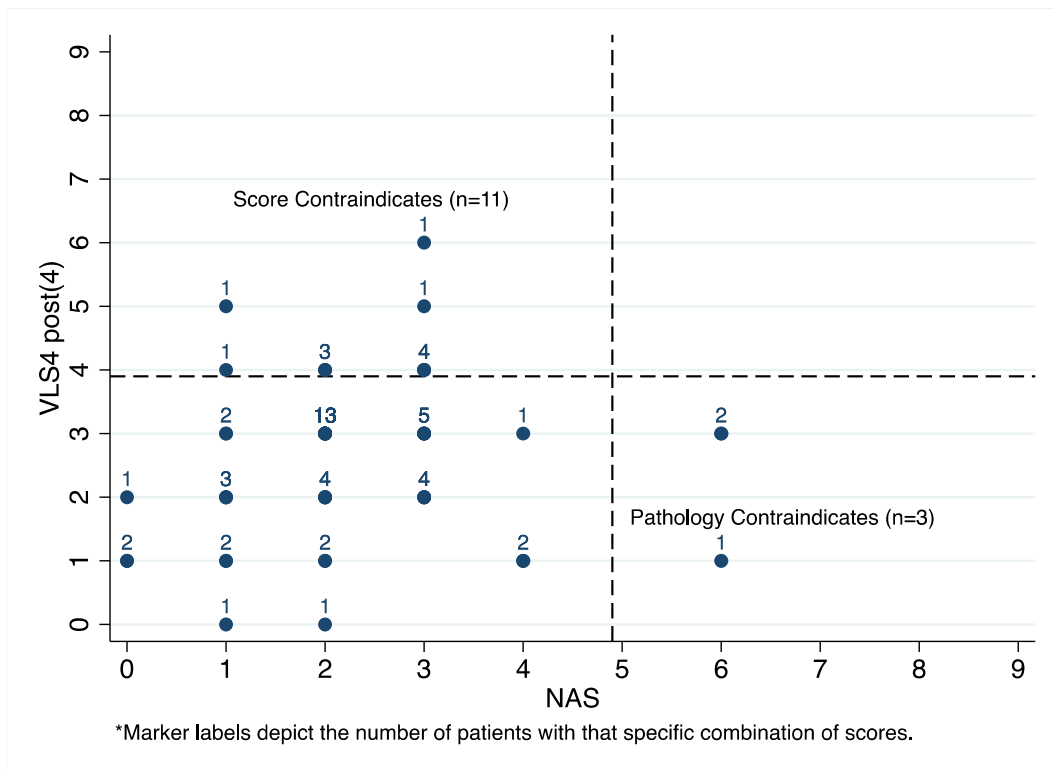
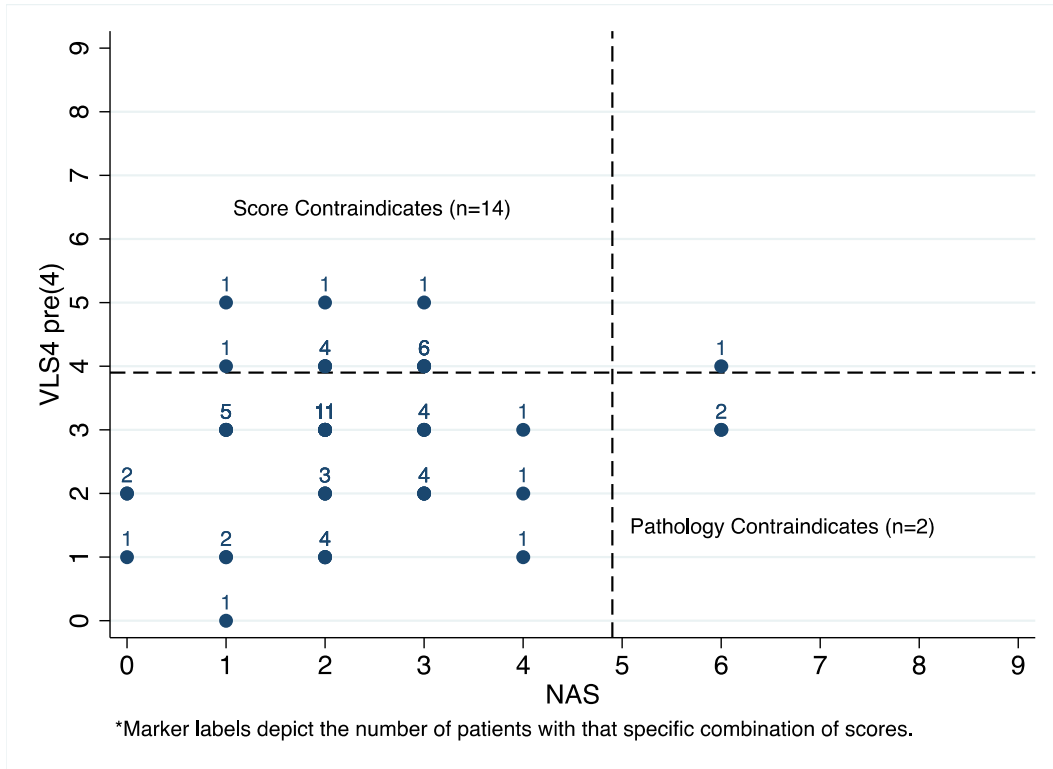




Figure S2. Paraná State Transplant Central Donation Informed Consent



Termo de autorização para remoção de múltiplos órgãos/tecidos.



1 - DOADOR:

Nome legível: _____ ME PCR

Idade: ____ anos Sexo: () M () F Data de Nascimento: ____/____/____ RG/CPF n°. _____

Endereço completo: _____

_____. Município: _____ Estado: _____

Hospital: _____ Município: _____/PR.

Registro Hospitalar: _____ Data do óbito: ____/____/____ Horário do óbito - __ : __ h

Se menor de 18 anos de idade, obrigatório a autorização de ambos os pais ou responsável legal.

2 - RESPONSÁVEL LEGAL PELA AUTORIZAÇÃO: * LEI N°. 10.211 23 de março de 2001

Nome: _____

Idade: ____ Sexo: ____ RG/CPF n°. _____ Pr ofissão: _____

Grau de parentesco: _____

Endereço Completo: _____

CEP: _____

Município: _____ Estado: _____ Telefone: (____) _____

Assinatura: _____ Data: ____/____/____ Hora - __ : __ h

***Grau de parentesco: () Pai () Mãe**

Nome: _____

Idade: ____ Sexo: ____ RG/CPF n°. _____ Pr ofissão: _____

Endereço Completo: _____

CEP: _____

Município: _____ Estado: _____ Telefone: (____) _____

Assinatura: _____ Data: ____/____/____ Hora - __ : __ h

3 - AUTORIZO A RETIRADA DE ÓRGÃOS E/OU TECIDO

() Coração () Fígado () Rins () Pâncreas ()

() Coração para valvas () Globo ocular () TME

() Outros: _____

() Os órgãos e/ou tecidos que não forem utilizados para transplante, devido a sua qualidade, podem ser utilizados para fins científicos (ensino e pesquisa)

Obs: O autorizante não aceita a retirada, especificamente do órgão/tecido: _____

“Organs or fractions not utilized for transplant may be utilized for scientific purposes.”

3ª Via - Família

2ª Via - Hospital

1ª Via Cet - PR

Testemunha (1) Nome legível: _____

RG/CPF n°. _____ Parentesco: _____ Telefone: () _____

Endereço completo: _____

Assinatura: _____

Testemunha (2) Nome legível: _____

RG/CPF n°. _____ Parentesco: _____ Telefone: () _____

Endereço completo: _____

Assinatura: _____ Pr

ofissional responsável pela CIHDOTT:

Nome Completo: _____ Conselho: _____ Assinatura: _____

Secretaria de Saúde
 Central Estadual de Transplante do Paraná
 Rua Barão do Rio Branco, 465 - 1º Andar - Centro
 Fone: (41) 3304 - 1900 - Fax: (41) 3304 - 1903 CEP: 80010 - 180 - Curitiba - Paraná
 Http://www.saude.pr.gov.br e-mail: sesatran@sesa.pr.gov.br

Figure S3. Paraná State Transplant Central Summarized Donation Report

Hosp. Notificante: HOSP. UNIV. CAJURU DE CURITIBA	Paraná	PR
Data: [REDACTED]	OPO PARANA	Falar com:
Telefone p/ contato:	Ramal:	

Nome: [REDACTED]	RGCT: [REDACTED]				
Idade: 19	Sexo: Masculino	Cor: Negra	ABO: A	Peso: 65,00 KG	Altura: 168 cm

Causa da morte encefálica: TCE

História e Evolução Clínica (incluir Doenças Auto-Imunes, Neoplasias, Aneurismas, AVCs, IAMs, etc.)

PACIENTE COM DIAGNÓSTICO DE TCE GRAVE. NA HISTÓRIA MÉDICA E SOCIAL SEM COMORBIDADES. EXAME FÍSICO FRATURA FECHADA DE FÊMUR A DIREITO. EXAMES LABORATORIAIS: BASTÕES 27%, PCR 230,2, LIPASE 19 E LACTATO DE 1,5. CREATININA DE ENTRADA 1,09 MG/DL DO DIA 04/07/2020. SOROLOGIA IgG REAGENTE PARA CITOMEGALOVIRUS, TOXOPLASMOSE E VÍRUS E. BARR. EM USO DE VASOPRESSINA 12 ML/HORA. EM ANEXO ECOCARDIOGRAMA, CULTURAS, RESULTADO DO TESTE PARA COVID19, PARCIAL DE URINA E TOMOGRAFIA DE ABDOME TOTAL.

Antecedentes Diabetes:	no doador (X) Não () Sim () Ignorado	em parentes de 1º Grau () Não () Sim (X) Ignorado	
DPOC (X) Não () Sim	Drogas Injetáveis (X) Não () Sim	Drogas Inalatórias (X) Não () Sim	Álcool (X) Não () Sim
PCR: (X) Não () Sim	Intubado há 4 dias FiO2: 30,00 % - Dias de UTI: 3		
Diurese em 24hs: 1800 Diurese ml/Kg/hora	PA: 114 X 66 mmHg		
Recebeu Sangue/ Hemoderivados: (X) Não () Sim	Hemocultura Positiva: (X) Não () Sim	Germe Isolado:	
Droga Vasoativas: () Não (X) Sim	Dopamina: (X) Não () Sim	Dobutamina: (X) Não () Sim	Noradrenalina: (X) Não () Sim
Infecção: (X) Não () Sim	Rx Torax: () Não (X) Sim	Cateterismo/Eco: () Não (X) Sim	
Antibiótico 1: LEVOFLOXACINO 500MG Tempo: 2 Dias.	Antibiótico 2: _____ Tempo _____ Dias		
Antibiótico 3: _____ Tempo _____ Dias	HLA: A 1 24 B 8 75 DR 4 15		

Data:	08/07	__/__/__	__/__/__	Data:	08/07	__/__/__	__/__/__
HB	5,80			TGO	82,00		
HT	15,50			TGP	86,00		
GB	8900,00			Fos Alc	73,00		
PLTS	96000,00			GamaGT	15,00		
Uréia	43,30			Bil Total	0,40		
Creat	0,76			Bil Direta	0,19		
Na	141,00			FiO2	30,00		
K	3,80			Ph	7,46		
Glic	171,00			PO2	133,00		
CPK	2913,00			PCO2	42,00		
CK-MB	56,00			SatO2	99,00		
Amilase	48,00						

RESULTADO		POSITIVO		RESULTADO		POSITIVO	
		IgM	IgG			IgM	IgG
CHAGAS	Negativo	Não informado	Não informado	HIV	Negativo	Não informado	Não informado
Anti-HCV	Negativo	Não informado	Não informado	HTLVI-II	Negativo	Não informado	Não informado
HBs -Ag	Negativo	Não informado	Não informado	Toxoplasmose	Negativo		
Anti-HBs	Negativo	Não informado	Não informado	Citomegalovirus	Negativo		
Anti-HBc	Negativo	Não informado	Não informado	VDRL	Negativo	Não informado	Não informado
Observações							
Retirada marcada para as _____ h do dia ____/____/____							

Informações adicionais:

Responsável p/ Informações _____

Data __/__/____

Assinatura: _____

Órgãos e Tecidos doados	<input checked="" type="checkbox"/> Coração	<input checked="" type="checkbox"/> Fígado	<input checked="" type="checkbox"/> Rim
	<input checked="" type="checkbox"/> Pâncreas	<input type="checkbox"/> Pulmão	<input type="checkbox"/> Córnea
	<input type="checkbox"/> Intestino	<input type="checkbox"/> Osso	<input type="checkbox"/> Músculo/Tendão
	<input type="checkbox"/> Pele	<input type="checkbox"/> Vasos	

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo, segundo a revisão bibliográfica realizada, foi o primeiro descrito na literatura a utilizar um escore metodizado para análise de DHGNA em enxertos hepáticos cadavéricos considerados para transplante, com o intuito de avaliar corretamente sua presença e gravidade, objetivando excluir o gargalo logístico da necessidade de biópsia hepática para aumentar a disponibilidade de órgãos.

Porém, sua heterogeneidade de análise quando da comparação de desempenho interobservadores e insuficiente acurácia, permitindo descarte de enxertos viáveis e a não identificação de enxertos inviáveis, não soluciona as questões normalmente enfrentadas à avaliação de um enxerto hepático apenas ectoscopicamente, quando não há possibilidade de avaliação anatomopatológica.

A modificação aumentando sua pontuação de corte para viabilidade incluiria como viáveis enxertos inicialmente classificados como não-utilizáveis, mas paralelamente acarretaria o uso universal dos órgãos, segundo nossa amostra. Ademais, a alteração na linha de corte não solucionaria a má capacidade do escore para identificar os enxertos inviáveis.

Algumas limitações são notáveis no presente estudo. Primeiramente, a investigação foi realizada em um único centro, e apesar de ser o maior centro transplantador do estado, é necessário confirmar se o VLS seria igualmente avaliado por outro serviços de menor volume. Em segundo lugar, a avaliação visual foi realizada a partir de fotografias que, apesar de possuírem definição alta, podem gerar interpretações diferentes do VLS avaliado olhando diretamente para o órgão.

Novos estudos avaliando o desempenho da análise visual de enxertos hepáticos com amostras mais numerosas e, principalmente, relacionando a importância da estimativa visual de viabilidade com os desfechos clínicos pós-transplante são necessários, para que se possa definitivamente definir o papel da avaliação ectoscópica na seleção dos enxertos.

De acordo com nossos achados, esforços devem ser tomados no sentido de ampliar o acesso à avaliação anatomopatológica dos enxertos pelas equipes captadoras, em vista da limitação do método ectoscópico isoladamente para correta avaliação dos enxertos hepáticos, mesmo sob a égide de um escore metodizado visando orientar e uniformizar a análise.

A mesma amostra analisada no presente estudo será avaliada a respeito da evolução clínica dos receptores, correlacionando o desempenho dos métodos visual e anatomopatológico com o desfecho (não-funcionamento / disfunção / rejeição crônica / complicações biliares) pós-transplante. No cenário proposto, saberemos se há consequência prática dos achados pelos diferentes métodos de avaliação do enxerto, e quão acurados estes são em suas análises no âmbito clínico.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Wertheim JA, Petrowsky H, Saab S, Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Major challenges limiting liver transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2011;11:1773-1784.
2. Durand F, Renz JF, Alkofer B, Burra P, Clavien PA, Porte RJ, et al. Report of the Paris consensus meeting on expanded criteria donors in liver transplantation. *Liver Transpl* 2008;14:1694-1707.
3. Spitzer AL, Lao OB, Dick AA, Bakthavatsalam R, Halldorson JB, Yeh MM, et al. The biopsied donor liver: incorporating macrosteatosis into high-risk donor assessment. *Liver Transpl* 2010;16:874-884.
4. McCormack L, Dutkowski P, El-Badry AM, Clavien PA. Liver transplantation using fatty livers: always feasible?. *J Hepatol*. 2011;54(5):1055-1062.
5. Ooi GJ, Burton PR, Doyle L, et al. Modified thresholds for fibrosis risk scores in nonalcoholic fatty liver disease are necessary in the obese. *Obes Surg*. 2017;27(1):115–25.
6. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1592–609.
7. Zamboni F, Franchello A, David E, Rocca G, Ricchiuti A, Lavezzo B, et al. Effect of macrovesicular steatosis and other donor and recipient characteristics on the outcome of liver transplantation. *Clin Transplant* 2001;15:53-57.
8. de Graaf EL, Kench J, Dilworth P, Shackel NA, Strasser SI, Joseph D, et al. Grade of deceased donor liver macrovesicular steatosis impacts graft and recipient outcomes more than the donor risk index. *J Gastroenterol Hepatol* 2012;27:540-546.

9. Diamant AL, Babey SH, Wolstein J, Jones M. Obesity and diabetes: two growing epidemics in California. Policy Brief UCLA Cent Health Policy Res 2010:1-12.
10. Nguyen DM, El-Serag HB. The epidemiology of obesity. Gastroenterol Clin North Am 2010;39:1-7.
11. Kleiner DE, Berk PD, Hsu JY, et al. Hepatic pathology among patients without known liver disease undergoing bariatric surgery: observations and a perspective from the longitudinal assessment of bariatric surgery (LABS) study. Semin Liv Dis. 2014;34(1):98–107.
12. Teixeira AR, Bellodi-Privato M, Carvalheira JB, et al. The incapacity of the surgeon to identify NASH in bariatric surgery makes biopsy mandatory. Obes Surg. 2009;19(12):1678–84.
13. Shalhub S, Parsee A, Gallagher SF, et al. The importance of routine liver biopsy in diagnosing nonalcoholic steatohepatitis in bariatric patients. Obes Surg. 2004;14(1):54–9.
14. Mahawar KK, Parmar C, Graham Y, et al. Routine liver biopsy during bariatric surgery: an analysis of evidence base. Obes Surg. 2016;26(1):177–81.
15. Chiu CC, LeeWJ,WangW, et al. Correlations of laparoscopy with histology and laboratory studies on liver diseases in bariatric patients. Obes Surg. 2008;18(2):204–11.
16. Dolce CJ, Russo M, Keller JE, et al. Does liver appearance predict histopathologic findings: prospective analysis of routine liver biopsies during bariatric surgery. Surg Obes Relat Dis. 2009;5(3):323–8.
17. Ooi GJ, Burton PR, Earnest A, et al. Visual Liver Score to stratify non-alcoholic steatohepatitis risk and determine selective intraoperative liver biopsy in obesity. Obes Surg. 2018;28:427-436.

18. Briceño, J., Marchal, T., Padillo, J., Solórzano, G., & Pera, C. (2002). Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation*, 74(4), 522-526.
19. Busuttil RW, Petrowsky H. Liver transplantation. In: Fischer JE, ed. *Fischer's Mastery of Surgery*. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2012:1350-1364.
20. Brunt EM, Kleiner DE, Behling C, et al. Misuse of scoring systems. *Hepatology*. 2011;54:369–70.
21. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121:91–100.
22. Jalan R, Harrison DJ, Dillon JF, et al. Laparoscopy and histology in the diagnosis of chronic liver disease. *QLM*. 1998;88(8):559–64.

8. ANEXOS

Anexo 1. Relatório Sumarizado de Doação do Ministério da Saúde Brasileiro

Hosp. Notificante: HOSP. UNIV. CAJURU DE CURITIBA		Paraná	PR
Data:	OPO PARANA	Falar com:	
Telefone p/ contato:		Ramal:	

Nome		RGCT	
Idade: 19	Sexo: Masculino	Cor: Negra	ABO: A
Peso: 65,00 KG		Altura: 168 cm	

Causa da morte encefálica: TCE
História e Evolução Clínica (incluir Doenças Auto-Imunes, Neoplasias, Aneurismas, AVCs, IAMs, etc.)
PACIENTE COM DIAGNÓSTICO DE TCE GRAVE. NA HISTÓRIA MÉDICA E SOCIAL SEM COMORBIDADES. EXAME FÍSICO FRATURA FECHADA DE FÊMUR A DIREITO. EXAMES LABORATORIAIS: BASTÕES 27%, PCR 230,2, LIPASE 19 E LACTATO DE 1,5. CREATININA DE ENTRADA 1,09 MG/DL DO DIA 04/07/2020. SOROLOGIA IgG REAGENTE PARA CITOMEGALOVIRUS, TOXOPLASMOSE E VÍRUS E. BARR. EM USO DE VASOPRESSINA 12 ML/HORA. EM ANEXO ECOCARDIOGRAMA, CULTURAS, RESULTADO DO TESTE PARA COVID19, PARCIAL DE URINA E TOMOGRAFIA DE ABDOME TOTAL.

Antecedentes Diabetes:	no doador (X) Não () Sim () Ignorado	em parentes de 1º Grau () Não () Sim (X) Ignorado
DPOC (X) Não () Sim	Drogas Injetáveis (X) Não () Sim	Drogas Inalatórias (X) Não () Sim
Álcool (X) Não () Sim	Intubado há 4 dias FiO2: 30,00 % - Dias de UTI: 3	
Diurese em 24hs: 1800 Diurese ml/Kg/hora	PA: 114 X 66 mmHg	
Recebeu Sangue/ Hemoderivados: (X) Não () Sim	Hemocultura Positiva: (X) Não () Sim	Germe Isolado:
Droga Vasoativas: () Não (X) Sim	Dopamina: (X) Não () Sim	Dobutamina: (X) Não () Sim
Noradrenalina: (X) Não () Sim	Infecção: (X) Não () Sim	
Rx Toráx: () Não (X) Sim	Cateterismo/Eco: () Não (X) Sim	
Antibiótico 1: LEVOFLOXACINO 500MG Tempo: 2 Dias.	Antibiótico 2: _____ Tempo _____ Dias	
Antibiótico 3: _____ Tempo _____ Dias	HLA: A 1 24 B 8 75 DR 4 15	

Data:	08/07	__/__/__	__/__/__	Data:	08/07	__/__/__	__/__/__
HB	5,80			TGO	82,00		
HT	15,50			TGP	86,00		
GB	8900,00			Fos Alc	73,00		
PLTS	96000,00			GamaGT	15,00		
Uréia	43,30			Bil Total	0,40		
Creat	0,76			Bil Direta	0,19		
Na	141,00			FiO2	30,00		
K	3,80			Ph	7,46		
Glic	171,00			PO2	133,00		
CPK	2913,00			PCO2	42,00		
CK-MB	56,00			SatO2	99,00		
Amilase	48,00						

RESULTADO		POSITIVO		RESULTADO		POSITIVO	
		IgM	IgG			IgM	IgG
CHAGAS	Negativo	Não informado	Não informado	HIV	Negativo	Não informado	Não informado
Anti-HCV	Negativo	Não informado	Não informado	HTLVI-II	Negativo	Não informado	Não informado
HBs -Ag	Negativo	Não informado	Não informado	Toxoplasmose	Negativo		
Anti-HBs	Negativo	Não informado	Não informado	Citomegalovirus	Negativo		
Anti-HBc	Negativo	Não informado	Não informado	VDRL	Negativo	Não informado	Não informado
Observações							
Retirada marcada para as _____ h do dia ____/____/____							

Informações adicionais:

Responsável p/ Informações _____

Data __/__/____

Assinatura: _____

Órgãos e Tecidos doados	<input checked="" type="checkbox"/> Coração	<input checked="" type="checkbox"/> Fígado	<input checked="" type="checkbox"/> Rim
	<input checked="" type="checkbox"/> Pâncreas	<input type="checkbox"/> Pulmão	<input type="checkbox"/> Córnea
	<input type="checkbox"/> Intestino	<input type="checkbox"/> Osso	<input type="checkbox"/> Músculo/Tendão
	<input type="checkbox"/> Pele	<input type="checkbox"/> Vasos	

Anexo 2. Termo de Autorização de Doação da CET/PR



Termo de autorização para remoção de múltiplos órgãos/tecidos.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Saúde

1 - DOADOR:

Nome legível: _____ ME PCR
Idade: ____ anos Sexo: () M () F Data de Nascimento: ____/____/____ RG/CPF n°. _____
Endereço completo: _____
_____. Município: _____ Estado: _____
Hospital: _____ Município: _____/PR.
Registro Hospitalar: _____ Data do óbito: ____/____/____ Horário do óbito - __ : __ h

Se menor de 18 anos de idade, obrigatório a autorização de ambos os pais ou responsável legal.

2 - RESPONSÁVEL LEGAL PELA AUTORIZAÇÃO:

* LEI N°. 10.211 23 de março de 2001

Nome: _____
Idade: ____ Sexo: ____ RG/CPF n°. _____ Pr ofissão: _____
Grau de parentesco: _____
Endereço Completo: _____
CEP: _____
Município: _____ Estado: _____ Telefone: (____) _____
Assinatura: _____ Data: ____/____/____ Hora - __ : __ h

*Grau de parentesco: () Pai () Mãe

Nome: _____
Idade: ____ Sexo: ____ RG/CPF n°. _____ Pr ofissão: _____
Endereço Completo: _____
CEP: _____
Município: _____ Estado: _____ Telefone: (____) _____
Assinatura: _____ Data: ____/____/____ Hora - __ : __ h

3 - AUTORIZO A RETIRADA DE ÓRGÃOS E/OU TECIDOS PARA FINS DE TRANSPLANTES:

() Coração () Fígado () Rins () Pâncreas () Pulmões () Intestino
() Coração para valvas () Globo ocular () TME - Ossos () Pele
() Outros: _____

() Os órgãos e/ou tecidos que não forem utilizados para transplante, devido a sua qualidade, podem ser utilizados para fins científicos (ensino e pesquisa)

Obs: O autorizante não aceita a retirada, especificamente do órgão/tecido: _____

1ª via Cet - PR
2ª via - Hospital
3ª via - Família

Testemunha (1) Nome legível: _____
RG/CPF n°. _____ Parentesco: _____ Telefone: () _____
Endereço completo: _____
Assinatura: _____

Testemunha (2) Nome legível: _____
RG/CPF n°. _____ Parentesco: _____ Telefone: () _____
Endereço completo: _____
Assinatura: _____ Pr

ofissional responsável pela CIHDOTT:
Nome Completo: _____ Conselho: _____ Assinatura: _____

Secretaria de Saúde
Central Estadual de Transplante do Paraná
Rua Barão do Rio Branco, 465 - 1º Andar - Centro
Fone: (41) 3304 - 1900 - Fax: (41) 3304 - 1903 CEP: 80010 - 180 - Curitiba - Paraná
Http://www.saude.pr.gov.br e-mail: sesatran@sesa.pr.gov.br