

Expressão hepatocitária do Fator Inibitório da Migração de Macrófagos (MIF) está associada à lesão de isquemia–reperfusão após transplante hepático

Hepatocellular Expression of Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Is Associated with Ischemia–Reperfusion Injury After Liver Transplantation

RODRIGO HUMBERTO VILAR PONTES FILHO¹ ; CAMILA XAVIER BRITO¹ ; SERENA DÁFNE DO CARMO SILVA¹ ; AGNALDO SOARES LIMA² ; FRANCISCO GUILHERME CANCELA E PENNA³ ; FERNANDA MARIA FARAGE OSÓRIO³ ; NIKOLAS KNUPP THOME⁴ ; CRISTIANO XAVIER LIMA⁴ ; PAULA VIEIRA TEIXEIRA VIDIGAL¹ .

R E S U M O

Introdução: A lesão de isquemia–reperfusão (LIR) é um evento determinante da função inicial do enxerto após o transplante hepático (TH). O fator inibitório da migração de macrófagos (MIF) é uma citocina pleiotrópica envolvida em vias inflamatórias e em mecanismos de adaptação celular ao estresse oxidativo. Embora possa exercer papel modulador na LIR, sua expressão tecidual imediata em enxertos hepáticos permanece pouco caracterizada. **Métodos:** Este estudo retrospectivo avaliou receptores adultos submetidos a transplante hepático, com análise histológica e imuno-histoquímica de biópsias obtidas após a reperfusão. A expressão de MIF foi quantificada por meio do plugin IHC Profiler (ImageJ), enquanto a LIR foi graduada segundo critérios histopatológicos validados. **Resultados:** Entre 153 biópsias analisadas, 103 preencheram os critérios de elegibilidade, com predomínio de LIR ausente ou leve (70,9%). A expressão hepatocitária de MIF foi predominantemente fraca ou moderada. Marcações mais intensas de MIF associaram-se a menor gravidade da LIR ($p < 0,05$). A expressão de MIF correlacionou-se com parâmetros laboratoriais pré-transplante, sem associação com esteatose ou com desfechos precoces, incluindo retransplante ou óbito em até 15 dias. **Conclusão:** Esses achados sugerem que maior marcação tecidual de MIF no momento da reperfusão relaciona-se a menor intensidade da LIR, indicando possível papel adaptativo dessa citocina nessa fase crítica. O MIF desponta como potencial marcador tecidual complementar ao escore histopatológico tradicional, com relevância para a avaliação de enxertos e para o desenvolvimento de estratégias contemporâneas de perfusão hepática.

Palavras-chave: Transplante de Fígado. Lesão por Isquemia-Reperfusão. Fator Inibidor da Migração de Macrófago.

INTRODUÇÃO

O transplante hepático é o tratamento de escolha para a doença hepática crônica avançada e para diversas formas de falência hepática aguda, alcançando taxas de sobrevivência em cinco anos superiores a 75%¹. Apesar do aprimoramento das técnicas cirúrgicas e do suporte perioperatório, a função inicial do enxerto ainda pode ser significativamente comprometida pela lesão de isquemia–reperfusão (LIR). Trata-se de um processo complexo que se inicia na captação do órgão, perpassa os períodos de isquemia fria e quente e se intensifica no momento da reperfusão. Esse fenômeno envolve estresse oxidativo, disfunção microvascular, ativação de células de Kupffer, recrutamento de neutrófilos e liberação de padrões moleculares associados ao dano, repercutindo em maior risco de disfunção precoce do enxerto (DPE)²⁻⁴.

A avaliação histopatológica da biópsia de tempo zero, obtida após a reperfusão, fornece uma medida direta da intensidade da LIR. Alterações como necrose zonal, congestão sinusoidal e degeneração hepatocelular constituem marcadores histológicos bem estabelecidos de lesões associadas a eventos isquêmicos. Estudos recentes descrevem análises semiquantitativas que integram esses achados, propondo diferentes graus histopatológicos de LIR como fatores preditores de desfechos desfavoráveis, incluindo maior incidência de DPE^{5,6}.

O fator inibitório da migração de macrófagos (MIF) é uma citocina pleiotrópica e mediador central da imunidade inata, tradicionalmente associado a efeitos pró-inflamatórios, mas atualmente descrito como regulador importante do estresse oxidativo, da sobrevivência celular e da homeostase metabólica em diferentes órgãos, incluindo o fígado⁷⁻¹¹.

1- Universidade Federal de Minas Gerais (Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal) - Belo Horizonte - MG - Brasil 2 - Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte (Cirurgia do Aparelho Digestivo) - Belo Horizonte - MG - Brasil 3 - Hospital das Clínicas da UFMG - Belo Horizonte - MG - Brasil 4 - Universidade Federal de Minas Gerais (Departamento de Cirurgia) - Belo Horizonte - MG - Brasil

O MIF está envolvido em diversas condições inflamatórias do trato gastrointestinal e do fígado. No parênquima hepático, essa citocina é expressa por hepatócitos, células de Kupffer e células endoteliais sinusoidais, participando tanto de vias pró-inflamatórias quanto de mecanismos adaptativos de proteção celular¹². Sua função hepática é fortemente dependente do contexto patogênico, podendo atuar como fator lesivo em processos inflamatórios crônicos, mas desempenhar papel protetor em situações de injúria aguda. Apesar de sua participação em múltiplos distúrbios hepáticos, o papel do MIF na fase de reperfusão do enxerto no transplante hepático permanece pouco caracterizado, abrindo espaço para investigações que explorem sua expressão tecidual e suas potenciais implicações na gravidade da lesão hepatocelular.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre a expressão citoplasmática de MIF em hepatócitos e o escore histopatológico da LIR em biópsias pós-reperfusão de enxertos hepáticos.

OBJETIVOS

O objetivo primário do estudo foi avaliar a associação entre a expressão imunohistoquímica de MIF em hepatócitos e o escore histopatológico de lesão de isquemia-reperfusão em biópsias pós-perfusionais de enxertos hepáticos. Objetivos secundários incluem a avaliação da relação entre a expressão de MIF e a ocorrência de disfunção primária do enxerto além de sua correlação com desfechos clínicos a curto prazo, como retransplante ou morte nos primeiros 15 dias de pós-operatório.

MÉTODOS

Delineamento do estudo e população

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo, conduzido a partir da análise de biópsias hepáticas pós-reperfusão (tempo zero) arquivadas no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da UFMG/Ebserh. Dados clínicos, cirúrgicos e laboratoriais foram obtidos de prontuários eletrônicos e registros institucionais. O relato do estudo seguiu as recomendações

da iniciativa Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE).

Foram elegíveis receptores adultos (≥ 18 anos) submetidos a transplante hepático com doadores falecidos entre 2000 e 2020. Como a biópsia pós-reperfusão não foi realizada de forma sistemática ao longo do período – sendo indicada apenas em situações clínicas específicas ou por decisão da equipe transplantadora –, o estudo baseou-se em uma amostra retrospectiva por conveniência, composta pelos casos com material histológico adequado para análise. Foram incluídos pacientes com biópsias obtidas imediatamente após a reperfusão, com fragmentos preservados para avaliação histopatológica e imuno-histoquímica e dados clínicos e laboratoriais suficientes para a caracterização da função inicial do enxerto. Excluíram-se casos de retransplante, biópsias inadequadas, ausência de informações clínicas essenciais e óbitos intraoperatórios.

As variáveis analisadas foram definidas com base em sua relevância para a avaliação da LIR, da função inicial do enxerto e dos desfechos pós-operatórios precoces. Para os receptores, foram considerados dados demográficos, etiologia da doença hepática, condições clínicas pré-operatórias e os exames laboratoriais utilizados no cálculo do escore MELD clássico (bilirrubina, RNI e creatinina), conforme o sistema de alocação vigente no período analisado¹³⁻¹⁵. O sódio sérico foi registrado separadamente, uma vez que o escore MELD-Na não constituía critério de priorização à época. Também foram coletadas informações referentes ao tempo de internação hospitalar e à ocorrência de retransplante ou óbito até o 15º dia pós-operatório. Em relação aos doadores, foram analisados idade, sexo, características clínicas documentadas no processo de captação e tempo de isquemia fria. Parâmetros laboratoriais seriados até o sétimo dia pós-operatório — incluindo bilirrubina total, AST, ALT, RNI, creatinina, sódio, hemoglobina, leucócitos e plaquetas — foram utilizados para caracterizar a evolução clínica inicial e definir a ocorrência de DPE⁴.

Procedimentos histopatológicos e imuno-histoquímicos

As biópsias hepáticas pós-reperfusão foram fixadas em formalina tamponada a 10%, incluídas em

parafina e seccionadas em cortes de 3–4 µm, sendo coradas por hematoxilina e eosina para avaliação morfológica. A análise histopatológica foi realizada de forma independente e às cegas por dois patologistas experientes, com base em critérios morfológicos validados para a classificação da

LIR¹⁶. Foram avaliados edema e tumefação hepatocitária, congestão sinusoidal, degeneração hepatocelular, infiltrado leucocitário lobular e sinusoidal, necrose hepatocelular — predominantemente em zona 3 —, além de deposição de lipopigmentos e debris celulares (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação histológica da lesão de isquemia e reperfusão.

Categoria	Critérios histopatológicos
Ausente	Não mais que raros neutrófilos intra sinusoidais isolados.
Leve	Infiltrado neutrofílico intra sinusoidal mais proeminente, mas sem agrupamentos de neutrófilos ou necrose de hepatócitos.
Moderada	Vários agrupamentos de neutrófilos associados a dano hepatocelular.
Acentuada	Vários agrupamentos de neutrófilos associados à necrose confluyente de hepatócitos.

Nota: Adaptado de Ali et al., 2015

A expressão citoplasmática de MIF nos hepatócitos foi avaliada por imuno-histoquímica em cortes de 4 µm de tecido incluído em parafina, utilizando anticorpo policlonal anti-MIF (ab65869, Abcam, Cambridge, Reino Unido). Após processamento histológico padrão, as reações foram reveladas por sistema polimérico com cromógeno 3,3-diaminobenzidina, seguidas de contracoloração por hematoxilina e digitalização das lâminas.

A quantificação da expressão imuno-histoquímica de MIF foi realizada com o plugin IHC Profiler do software ImageJ Fiji (versão 1.2; W. S. Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD), a partir da análise de cinco áreas representativas por lâmina. A intensidade da marcação foi classificada como negativa, positiva fraca, positiva moderada ou fortemente positiva, sendo o escore final definido pela moda das áreas analisadas ou, quando necessário, pelo patologista responsável. Tendo em vista a expressão constitutiva do marcador nos hepatócitos, os resultados foram agrupados em marcação negativa/ positiva fraca e marcação positiva para enfatizar o papel da hiperexpressão do MIF na LIR8.

Desfechos e análise estatística

O desfecho primário foi a associação entre a expressão hepatocelular de MIF e o escore histopatológico da lesão de isquemia-reperfusão.

Como desfecho secundário, avaliou-se a evolução dos parâmetros laboratoriais seriados nos primeiros sete dias do pós-operatório. A análise estatística foi realizada no software SPSS Statistics (IBM Corp., versão 23.0, Armonk, NY). Variáveis contínuas foram expressas como medianas e intervalos interquartis, e variáveis categóricas como frequências absolutas e relativas. O teste de Mann–Whitney e os testes do qui-quadrado ou exato de Fisher foram empregados na análise univariada, considerando-se estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

Aspectos éticos

O estudo foi conduzido em conformidade com a Declaração de Helsinque e com as diretrizes nacionais para pesquisas envolvendo seres humanos, com aprovação prévia do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob o parecer CAAE 42157120.3.0000.5149.

RESULTADOS

Características da amostra e fluxo de inclusão

Foram avaliadas 153 biópsias hepáticas pós-reperfusão arquivadas entre 2000 e 2020. Após a exclusão de casos com material histológico insuficiente ou diagnósticos incompatíveis, 103 pacientes foram incluídos na análise final, conforme ilustrado na Figura 1.

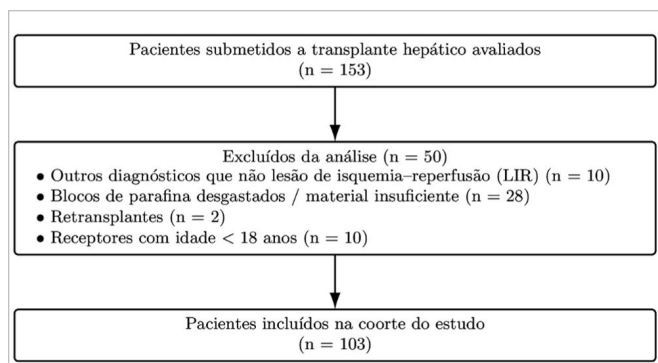


Figura 1. Fluxograma de seleção das biópsias pós-reperfusão para estudo de imuno-histoquímico e revisão de prontuário.

A média de idade dos receptores foi de 49,5 anos, com predomínio do sexo masculino. As principais etiologias da doença hepática foram cirrose etanólica (30,1%) e hepatites virais (29,1%). As características demográficas e clínicas da amostra estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes incluídos.

Variável	Valor
Idade do receptor (anos)	49,5 ± 12,5
Sexo masculino, n (%)	67 (65%)
Sexo feminino, n (%)	36 (35%)
MELD	18 (10–40)
Child-Pugh A, n (%)	13 (12,6%)
Child-Pugh B, n (%)	51 (49,5%)
Child-Pugh C, n (%)	39 (37,9%)
Creatinina do receptor (mg/dL)	1,2 ± 0,8
Creatinina do doador (mg/dL)	1,1 ± 0,6
Tempo de isquemia fria (min)	480 (260–1296)
Tempo de internação (dias)	15 (4–94)

Valores apresentados como média ± desvio-padrão ou mediana (mínimo–máximo), conforme apropriado

Classificação da lesão de isquemia-reperfusão

Com base nos critérios histológicos, 49 biópsias (47,6%) não apresentaram evidências de LIR, 24 (23,3%) foram classificadas como LIR leve, 25 (24,3%) como LIR moderada e apenas cinco (4,9%) como LIR acentuada (Figuras 2D, 2E e 2F). Nenhuma das variáveis clínico-epidemiológicas avaliadas apresentou associação estatisticamente significativa com a presença de LIR.

Expressão imuno-histoquímica do MIF

A análise imuno-histoquímica demonstrou expressão hepatocitária positiva fraca em 64 casos (62,1%), positiva moderada em 34 casos (33,0%) e negativa em cinco casos (4,9%). Nenhum caso apresentou expressão positiva forte. A Figura 2 ilustra a localização celular e a intensidade da marcação observadas.

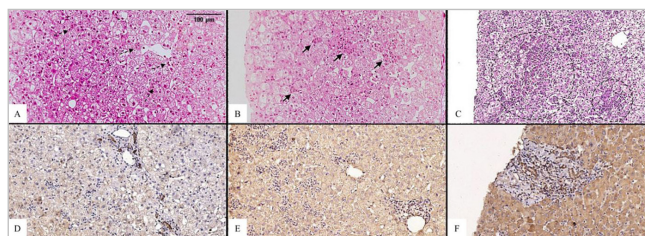


Figura 2. Classificação histológica da IRI em biópsias pós-reperfusão. Em (A) é mostrada a presença de poucos neutrófilos nos capilares sinusoidais, sem necrose hepatocitária (seta pontilhada), correspondendo a IRI leve. Em (B) observa-se agrupamento frequente de neutrófilos com necrose focal de hepatócitos (seta contínua). Em (C) são mostradas áreas de confluência de necrose hepatocitária (áreas tracejadas), correspondendo a IRI grave.

Associação entre a expressão imuno-histoquímica de MIF e a gravidade da LIR

A análise univariada demonstrou associação significativa entre a expressão imuno-histoquímica positiva de MIF e a presença de LIR ausente ou leve ($p = 0,024$). A Tabela 3 apresenta a distribuição das variáveis clínicas e histopatológicas — incluindo idade, etiologia da doença hepática, escore MELD, presença de carcinoma hepatocelular (CHC), LIR e esteatose — de acordo com os grupos de expressão de MIF. Não foi observada associação entre a expressão de MIF e a presença de esteatose.

Associação entre a expressão imuno-histoquímica de MIF e parâmetros laboratoriais pré-transplante

Entre os 82 pacientes com dados laboratoriais completos, a expressão imuno-histoquímica positiva de MIF associou-se a menor valor de albumina sérica no pré-transplante ($p = 0,013$), bem como a maiores níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST) ($p = 0,010$) e alanina aminotransferase (ALT) ($p = 0,018$).

no período pré-transplante. A Tabela 4 apresenta os parâmetros bioquímicos associados à expressão de MIF, sem associação com os exames laboratoriais do pós-transplante.

Tabela 3 - Correlação da expressão imunohistoquímica de MIF com dados do enxerto, do doador e do transplante.

Variável	Expressão de MIF negativa ou positiva fraca (n = 69)	Expressão de MIF positiva (n = 34)	Valor p
Idade do receptor (anos)	50 ± 12.9	48.5 ± 11.6	0,358
Escore MELD	18 (10-40)	20 (11 - 37)	0,198
LIR			0,024
Ausente ou leve, n (%)	44 (63,8)	29 (85,3)	1,000
Moderada ou grave, n (%)	25 (36,2)	5 (14,7)	
Esteatose			
Ausente ou mínima, n (%)	60 (86,9)	31 (91,2)	
Leve, n (%)	7 (10,1)	3 (8,8)	
Moderada, n (%)	1 (1,5)	0 (0)	0,201
Acentuada, n (%)	1 (1,5)	0 (0)	
Idade do doador (anos)	36.1 ± 13.7	30.50 ± 13.2	
Creatinina sérica do doador (mg/dL)	1.1 ± 0.7	1.0 ± 0.3	
IMC do doador (kg/m ²)	23.4 (17.3 – 42.9)	24.0 (19.6 – 29.4)	
Tempo de isquemia fria (min)	490.0 (260.0 – 910.0)	459.0 (270.0 – 840.0)	0,184

Valores apresentados como média ± desvio-padrão ou mediana (mínimo-máximo), conforme apropriado. Variáveis categóricas apresentadas como número absoluto (porcentagem). Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Tabela 4 - Correlação da expressão de MIF com os valores de exames laboratoriais pré e pós transplante.

Variável	Expressão de MIF negativa ou positiva fraca (n = 69)	Expressão de MIF positiva (n = 34)	Valor p
Pré transplante			
Uréia (mg/dL)	30 (3.0 - 125)	25 (14.0 – 63.0)	0,205
Creatinina (mg/dL)	1.1 (0.5 – 2.1)	0.9 (0.4 – 6.7)	0,524
Bilirrubina total (mg/dL)	3.0 (0.7 – 34.3)	2.9 (1.2 – 30.5)	0,523
Bilirrubina direta (mg/dL)	0.9 (0.1 – 30.0)	1.1 (0.2 – 27.1)	0,055
RNI	1.8 (1.4 – 5.3)	2.0 (1.5 – 12.2)	0,227
Albumina (g/L)	2.9 (1.6 – 4.7)	2.7 (1.1 – 4.0)	0,013
FA (U/L)	135 (60.0 – 2838.0)	164 (43.0 - 1396.0)	0,982
GGT (U/L)	77.3 (22.0 – 862.0)	78 (30.0 – 282.0)	0,942
AST (U/L)	56 (23.0 – 1036.0)	89 (33.0 – 1006.0)	0,010
ALT (U/L)	44 (13.0 – 998.0)	67 (19.0 – 1482.0)	0,018
Pós transplante			
Uréia (mg/dL)	33.6 (16.0 – 142.0)	31 (18.0 – 69.0)	0,419
Creatinina (mg/dL)	0.9 (0.4 – 1.9)	0.8 (0.4 – 4.4)	0,557
Bilirrubina total (mg/dL)	3.5 (0.2 – 15.7)	4.0 (0.0 – 12.6)	0,515
Bilirrubina direta (mg/dL)	2.1 (0.1 - 17.0)	3.0 (0.1 – 8.7)	0,373
RNI	2.5 (0.9 – 5.0)	2.3 (1.1 – 12.8)	0,628
Albumina (g/dL)	2.3 (0.9 – 4.2)	1.9 (1.0 – 3.3)	0,179
FA (U/L)	55.0 (23.0 – 248.0)	66 (39.0 – 824.0)	0,152

Variável	Expressão de MIF negativa ou positiva fraca (n = 69)	Expressão de MIF positiva (n = 34)	Valor p
GGT (U/L)	76.0 (21.0 – 997.0)	77.5 (22.0 – 1748)	0,861
AST (U/L)	662.5 (14.0 – 5061.0)	456.5 (61.0 – 4492.0)	0,411
ALT (U/L)	406.0 (14.0 – 2630.0)	366.5 (85.0 – 1886.0)	0,987

Valores apresentados como mediana (mínimo–máximo). Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

Expressão imuno-histoquímica de MIF e desfechos precoces

Dez pacientes (9,7%) evoluíram com retransplante ou óbito precoce. Nenhuma das variáveis avaliadas — incluindo a expressão de MIF, a presença de LIR, a idade do doador, o escore MELD, o tempo de isquemia fria e a esteatose — apresentou associação significativa com esse desfecho.

DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliamos a expressão hepatocitária do MIF em biópsias obtidas após a reperfusão ao final do transplante hepático e sua relação com a intensidade da LIR. A maioria dos enxertos apresentou achados histopatológicos compatíveis com LIR ausente ou leve, e a expressão imuno-histoquímica de MIF, quando detectada, foi predominantemente hepatocitária e de intensidade fraca ou moderada. Observou-se que níveis mais elevados de expressão hepatocitária de MIF associaram-se a graus histopatológicos mais baixos de LIR. Além disso, a expressão de MIF relacionou-se a alguns parâmetros laboratoriais pré-transplante, sem associação com esteatose ou com desfechos pós-operatórios precoces. Em conjunto, esses achados sugerem que a expressão de MIF após a reperfusão do enxerto pode refletir principalmente a resposta inicial do órgão ao estresse isquêmico.

A associação entre maior expressão hepatocitária de MIF e menor intensidade da LIR deve ser interpretada à luz do papel pleiotrópico dessa citocina na resposta celular ao estresse agudo, dependente do contexto biológico¹⁷⁻²¹. Embora o MIF seja classicamente descrito como mediador pró-inflamatório, sua liberação

rápida pelos hepatócitos em condições de hipóxia e reperfusão tem sido relacionada à ativação de vias citoprotetoras, com modulação do estresse oxidativo, preservação da viabilidade celular e favorecimento da recuperação metabólica inicial do parênquima hepático. Sob essa perspectiva, níveis mais elevados de MIF no momento da reperfusão podem representar uma resposta adaptativa do hepatócito ao insulto isquêmico, contribuindo para limitar o dano tecidual imediato observado nas biópsias de tempo zero.

Estudos experimentais e clínicos demonstram que o MIF participa de diferentes etapas da resposta hepatocelular ao dano isquêmico, atuando tanto na amplificação de vias inflamatórias quanto na modulação de processos de reparo e adaptação metabólica²²⁻²⁴. Em modelos de hipóxia e LIR, a expressão precoce de MIF associa-se à preservação mitocondrial, à redução do estresse oxidativo e à atenuação da necrose na zona 3, achados compatíveis com o padrão histológico observado nos enxertos com LIR mais leve neste estudo. Esses dados corroboram evidências prévias que destacam a heterogeneidade da LIR e reforçam a influência de fatores intrínsecos do enxerto sobre sua capacidade de resposta ao insulto isquêmico, conforme demonstrado por estudos que correlacionaram alterações histológicas da biópsia de tempo zero com o prognóstico inicial após o transplante hepático^{4,16}. Nesse contexto, nossos resultados sugerem que a expressão hepatocitária de MIF pode integrar esse espectro de respostas iniciais do enxerto, funcionando como um possível marcador de adaptação hepatocitária à reperfusão.

A interpretação desses achados requer cautela, uma vez que a dinâmica do MIF no contexto agudo de isquemia e reperfusão ainda é pouco caracterizada em transplantes de órgãos em humanos, havendo

escassez de descrições detalhadas de sua expressão hepatocitária imediata nessa situação. Em diversos modelos celulares, sabe-se que o MIF é rapidamente liberado a partir de estoques citoplasmáticos pré-formados quando a célula é exposta a estímulos pró-inflamatórios, mitogênicos ou hormonais⁸, sendo essa liberação inicial seguida por aumento da transcrição e reposição do conteúdo intracelular, o que caracteriza seu papel como mediador precoce e upstream da resposta ao estresse^{25,26}. Em cenários sistêmicos de hipóxia e inflamação aguda, concentrações elevadas de MIF têm sido associadas à limitação do estresse oxidativo, preservação mitocondrial e manutenção da viabilidade celular²⁷. Além disso, estudos prévios demonstraram elevação dos níveis de MIF na veia hepática e na circulação sistêmica logo após a reperfusão, sugerindo que o fígado atua como importante fonte dessa citocina nesse momento²⁸. Assim, é plausível que maior expressão hepatocitária de MIF represente uma resposta adaptativa do enxerto com maior capacidade de modular a agressão isquêmica inicial.

A ausência de associação entre a expressão hepatocitária de MIF e variáveis tradicionalmente relacionadas à evolução desfavorável do enxerto ou do receptor — como esteatose, escore MELD pré-operatório, idade do doador ou tempo de isquemia fria — sugere que a modulação inicial dessa citocina esteja mais diretamente vinculada à resposta celular imediata à reperfusão do que às condições clínicas basais. De modo semelhante, não se observou associação entre a expressão de MIF e desfechos precoces, como retransplante ou óbito em até 15 dias. Esses achados devem ser interpretados com cautela, uma vez que o estudo não foi delineado para avaliar desfechos clínicos de forma abrangente. A dependência da disponibilidade de biópsias pós-reperfusão resultou em uma amostra de conveniência, potencialmente não representativa de todo o espectro de gravidade dos transplantes realizados. Ademais, variáveis intraoperatórias e pós-operatórias relevantes — como instabilidade hemodinâmica, necessidade transfusional, duração do período anepático, uso de drogas vasoativas e intercorrências técnicas — não foram avaliadas de forma sistemática, limitando o

controle de possíveis fatores de confusão. Assim, não é possível extrapolar, a partir destes dados, um papel prognóstico da expressão hepatocitária de MIF.

Este estudo apresenta limitações inerentes ao seu delineamento retrospectivo e à inclusão apenas de casos com biópsias pós-reperfusão disponíveis no serviço o que restringiu a casuística, inclusive para desfechos precoces e combinados. A ampla janela temporal analisada abrange diferentes fases da evolução das técnicas cirúrgicas, métodos de preservação e estratégias de manejo perioperatório, introduzindo heterogeneidade não totalmente controlável. Além disso, a obtenção das biópsias não seguiu protocolo uniforme, e variações na indicação, no local do fragmento e na profundidade da amostragem podem ter influenciado a avaliação histológica; ainda que a leitura tenha sido realizada de forma cega por patologistas experientes, a classificação dos graus mais leves de LIR mantém certo grau de subjetividade. A análise concentrou-se exclusivamente na expressão hepatocitária de MIF, sem contemplar outros compartimentos celulares potencialmente relevantes na resposta à reperfusão, e o número reduzido de desfechos clínicos precoces limitou a avaliação de seu eventual impacto prognóstico.

Em síntese, os achados deste estudo indicam que a expressão hepatocitária de MIF no momento da reperfusão pode representar um componente relevante da resposta adaptativa à LIR, acrescentando uma dimensão fisiopatológica ainda pouco explorada no transplante hepático. Caso confirmada em estudos futuros, essa característica poderá posicionar o MIF como um marcador tecidual complementar ao escore histopatológico tradicional, com potencial aplicação na avaliação funcional de enxertos. Em um cenário de crescente incorporação de tecnologias de perfusão hepática extracorpórea, marcadores como o MIF poderão futuramente ser avaliados durante a perfusão normotérmica ou hipotérmica, auxiliando decisões relacionadas à aceitação, condicionamento ou descarte de órgãos com critérios expandidos. Para tanto, serão necessários estudos prospectivos, com amostragem padronizada, avaliação dinâmica da expressão de MIF em diferentes fases da preservação e controle rigoroso das variáveis operatórias.

CONCLUSÃO

Os achados deste estudo indicam que a expressão hepatocitária de MIF no momento da reperfusão associa-se a menor gravidade histológica da lesão de isquemia-reperfusão, sugerindo sua participação na resposta adaptativa inicial do enxerto. Nesse contexto, o MIF desponta como um potencial marcador tecidual complementar ao escore

histopatológico tradicional na avaliação da LIR. Estudos prospectivos serão necessários para esclarecer seu valor prognóstico e sua aplicabilidade clínica.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Fernanda Césari, técnica em Patologia do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal.

ABSTRACT

Introduction: Ischemia-reperfusion injury (IRI) is a major determinant of initial graft function after liver transplantation (LT), directly influencing the incidence of early dysfunction and short-term clinical outcomes. Macrophage migration inhibitory factor (MIF), a pleiotropic cytokine involved in inflammatory pathways and mechanisms of cellular adaptation to oxidative stress, may play a modulatory role in IRI, although its immediate tissue behaviour in grafts remains poorly characterised. **Methods:** We retrospectively evaluated adult LT recipients who underwent post-reperfusion biopsies suitable for histological and immunohistochemical analysis. Immunohistochemical expression of MIF was quantified using the IHC Profiler plugin (ImageJ), whereas IRI was graded according to validated histopathological criteria. **Results:** Among 153 biopsies analysed, 103 met the eligibility criteria, with most cases showing absent or mild IRI (70.9%). Hepatocellular expression of MIF was predominantly weak or moderate. Stronger immunohistochemical staining for MIF was associated with lower IRI severity ($p < 0.05$). MIF expression correlated with pre-transplant laboratory parameters, without association with steatosis or early outcomes, including retransplantation or death within 15 days. **Conclusion:** The findings suggest that greater immunohistochemical expression of MIF at reperfusion is associated with lower IRI intensity, indicating a possible adaptive role for this cytokine during this critical phase. MIF emerges as a potential tissue marker complementary to traditional histopathological scoring, with relevance for graft assessment and use in contemporary liver perfusion strategies.

Keywords: Liver Transplantation. Reperfusion Injury. Immunohistochemistry. Macrophage Migration Inhibitory Factors.

REFERÊNCIAS

1. Adam R, Karam V, Delvart V, O'Grady J, Mirza D, Klempnauer J, 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):675–88. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.015.
2. Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013;10(2):79–89. doi: 10.1038/nrgastro.2012.225.
3. Hann A, Osei-Bordom DC, Neil DAH, Ronca V, Warner S, Perera MTPR. The Human Immune Response to Cadaveric and Living Donor Liver Allografts. *Front Immunol.* 2020;11:1227. doi: 10.3389/fimmu.2020.01227.
4. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, 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):943–9. doi: 10.1002/lt.22091.
5. Ito T, Naini BV, Markovic D, Aziz A, Younan S, Lu M, et al. Ischemia-reperfusion injury and its relationship with early allograft dysfunction in liver transplant patients. *Am J Transplant.* 2021;21(2):614–25. doi: 10.1111/ajt.16219.
6. Fuentes-Valenzuela E, Tejedor-Tejada J, García-Pajares F, Rubiales BM, Nájera-Muñoz R, Maroto-Martín C, et al. Postreperfusion liver biopsy as

- predictor of early graft dysfunction and survival after orthotopic liver transplantation. *J Clin Exp Hepatol.* 2022;12(4):1133–41. doi: 10.1016/j.jceh.2021.12.015.
7. Leng L, Metz CN, Fang Y, Xu J, Donnelly S, Baugh J, et al. MIF Signal transduction initiated by binding to CD74. *J Exp Med.* 2003;197(11):1467–76. doi: 10.1084/jem.20030286.
 8. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(10):791–800. doi: 10.1038/nri1200.
 9. Kang I, Bucala R. The immunobiology of MIF: function, genetics and prospects for precision medicine. *Nat Rev Rheumatol.* 2019;15(7):427–37. doi: 10.1038/s41584-019-0238-2.
 10. Sumaiya K, Langford D, Natarajaseenivasan K, Shanmughapriya S. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): A multifaceted cytokine regulated by genetic and physiological strategies. *Pharmacol Ther.* 2022;233:108024. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.108024.
 11. Herkens L, Droste P, Boor P. The multifaced role of the macrophage migration inhibitory factor family in organ fibrosis. *Am J Physiol-Cell Physiol.* 2025;329(1):C119–35. doi: 10.1152/ajpcell.00198.2025.
 12. Ohkawara T, Nishihira J, Takeda H, Asaka M, Sugiyama T. Pathophysiological roles of macrophage migration inhibitory factor in gastrointestinal, hepatic, and pancreatic disorders. *J Gastroenterol.* 2005;40(2):117–22. doi: 10.1007/s00535-004-1526-3.
 13. Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no 2.600, de 21 de outubro de 2009. Aprova o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2009.
 14. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A Model to Predict Survival in Patients With End-Stage Liver Disease. *Hepatology.* 2001;33(2):464–70. doi: 10.1053/jhep.2001.22172.
 15. Wiesner RH, McDiarmid SV, Kamath PS, Edwards EB, Malinchoc M, Kremers WK, et al. MELD and PELD: Application of survival models to liver allocation. *Liver Transpl.* 2001;7(7):567–80. doi: 10.1053/jlts.2001.25879.
 16. Ali JM, Davies SE, Brais RJ, Randle LV, Klinck JR, Allison MED, et al. Analysis of ischemia/reperfusion injury in time-zero biopsies predicts liver allograft outcomes. *Liver Transpl.* 2015;21(4):487–99. doi: 10.1002/lt.24072.
 17. Miller EJ, Li J, Leng L, McDonald C, Atsumi T, Bucala R, et al. Macrophage migration inhibitory factor stimulates AMP-activated protein kinase in the ischaemic heart. *Nature.* 2008;451(7178):578–82. doi: 10.1038/nature06504.
 18. Morrison MC, Kleemann R. Role of macrophage migration inhibitory factor in obesity, insulin resistance, type 2 diabetes, and associated Hepatic co-morbidities: a comprehensive review of human and rodent studies. *Front Immunol.* 2015;6:308. doi: 10.3389/fimmu.2015.00308.
 19. Zhang X, Fan L, Wu J, Xu H, Leung WY, Fu K, et al. Macrophage p38 α promotes nutritional steatohepatitis through M1 polarization. *J Hepatol.* 2019;71(1):163–74. doi: 10.1016/j.jhep.2020.06.019.
 20. Ruze A, Chen BD, Liu F, Chen XC, Gai MT, Li XM, et al. Macrophage migration inhibitory factor plays an essential role in ischemic preconditioning-mediated cardioprotection. *Clin Sci.* 2019;133(5):665–80. doi: 10.1042/CS20181013.
 21. El Bounkari O, Zan C, Yang B, Ebert S, Wagner J, Bugar E, et al. An atypical atherogenic chemokine that promotes advanced atherosclerosis and hepatic lipogenesis. *Nat Commun.* 2025;16(1):2297. doi: 10.1038/s41467-025-57540-z.
 22. Liu A, Fang H, Dirsch O, Jin H, Dahmen U. Early release of macrophage migration inhibitory factor after liver ischemia and reperfusion injury in rats. *Cytokine.* 2012;57(1):150–7. doi: 10.1016/j.cyt.2011.11.009.
 23. Emontzpohl C, Stoppe C, Theißen A, Beckers C, Neumann UP, Lurje G, et al. The role of macrophage migration inhibitory factor in remote ischemic conditioning induced hepatoprotection in a rodent model of liver transplantation. *Shock.* 2019;52(5):e124–34. doi: 10.1097/SHK.0000000000001307.

24. Chen Z, Zhang J, Zhang L, Liu Y, Zhang T, Sang X, et al. Identification of PANoptosis related biomarkers to predict hepatic ischemia-reperfusion injury after liver transplantation. *Sci Rep.* 2025;15(1):15437. doi: 10.1038/s41598-025-99264-6.
25. Bacher M, Meinhardt A, Lan HY, Mu W, Metz CN, Chesney JA, et al. Migration inhibitory factor expression in experimentally induced endotoxemia. *Am J Pathol.* 1997;150(1):235–46.
26. Fingerle-Rowson G, Koch P, Bikoff R, Lin X, Metz CN, Dhabhar FS, et al. Regulation of macrophage migration inhibitory factor expression by glucocorticoids in vivo. *Am J Pathol.* 2003;162(1):47–56. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63797-2.
27. Pohl J, Hendgen-Cotta UR, Rammos C, Luedike P, Mull E, Stoppe C, et al. Targeted intracellular accumulation of macrophage migration inhibitory factor in the reperfused heart mediates cardioprotection. *Thromb Haemost.* 2016;115(01):200–12. doi: 10.1160/TH15-05-0436.
28. Baron-Stefaniak J, Schiefer J, Miller EJ, Plöchl W, Krenn CG, Berlakovich GA, et al. Graft-derived macrophage migration inhibitory factor correlates with hepatocellular injury in patients undergoing liver transplantation. *Clin Transplant.* 2017;31(6):e12982. doi: 10.1111/ctr.12982.

Disponibilidade e compartilhamento de Dados

Os dados que suportam os achados deste estudo estão disponíveis com o autor correspondente mediante solicitação.

Recebido em: 22/09/2025

Aceito para publicação em: 05/05/2026

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Editor

Daniel Cacione

Endereço para correspondência:

Rodrigo Humberto Vilar Pontes Filho

E-mail: rodrigo.h.pontesfilho@gmail.com

