



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE CIRURGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA**

**MARCOS AURÉLIO PESSOA BARROS**

**PRÉ-CONDICIONAMENTO COM L-ALANIL GLUTAMINA SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM ENXERTOS DE PACIENTES  
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE FÍGADO**

**FORTALEZA**

**2014**

**MARCOS AURÉLIO PESSOA BARROS**

**PRÉ-CONDICIONAMENTO COM L-ALANIL GLUTAMINA SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM ENXERTOS DE PACIENTES  
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE FÍGADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Orientador: Prof. Dr. José Huygens Parente Garcia.

**FORTALEZA**

**2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- B279e Barros, Marcos Aurélio Pessoa.  
Pré-condicionamento com L-Alanil glutamina sobre o estresse oxidativo e inflamação em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado./ Marcos Aurélio Pessoa Barros. – 2014. 104f.: il. color., enc.; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Doutorado em Cirurgia, Fortaleza, 2014.  
Área de Concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse.  
Orientação: Prof. Dr. José Huygens Parente Garcia.
1. Transplante de Fígado. 2. Glutamina. 3. Estresse Oxidativo. 4. Isquemia. 5. Reperfusão.  
I.Título.

---

CDD 617.556

**MARCOS AURÉLIO PESSOA BARROS**

**PRÉ-CONDICIONAMENTO COM L-ALANIL GLUTAMINA SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM ENXERTOS DE PACIENTES  
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE FÍGADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Aprovada em: 12/12/2014.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. José Huygens Parente Garcia (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra Geanne Matos de Andrade  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Maria Lúcia Zanotelli  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS)

---

Prof. Dr. Cícero Igor Simões Moura Silva  
Faculdades Instituto Superior de Teologia Aplicada (INTA)

A Deus, nosso criador, alfa e ômega.

Princípio e fim.

Ao meu pai César Barros (*'in memoriam'*)

Por todo o seu legado e por todo o meu ser.

'...Aonde quer que eu vá, levo você no olhar..'

À minha querida mãe, Maria Nazaré, força, garra, simpatia, fortaleza e regaço acolhedor. Mania de ter fé na vida. Levo comigo esta marca.

A minha tia Mirtes, por toda dedicação a minha mãe e nossa família.

Ao meu querido irmão Luís, pelo cuidado que tem por mim e minha família.

À minha esposa Manuella, rosa do amor predestinado. Soberana do sublime amor, deslumbrante beleza, quietude de minha alma e perpétua maternidade de meus quatro filhos.

Aos meus filhos Levi, Gabriel, Thiago e Marcos César que me transmitem alegrias e me fazem ir muito além de onde estou.

Ao Sr. Manoel e D. Maria Carmen, pais de minha esposa, por compartilharem a família comigo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, professor titular Departamento de Cirurgia e coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela incansável dedicação à Pós-Graduação dessa instituição, idealizador e empolgante incentivador desta tese.

Ao Prof. Dr. JOSÉ HUYGENS PARENTE GARCIA, professor titular do Departamento de Cirurgia, Chefe do Programa de Transplante Hepático da Universidade Federal do Ceará e orientador desta tese. Cirurgião incansável, líder compassivo por acreditar e investir nesta tese. Inspirado em Clarisse Lispector, nos ensina a “ deixar pela manhã todos os sonhos na cama , acordar e por a roupa de viver”, tornando esta tese exequível.

À Profa. Dra. GEANNE MATOS DE ANDRADE, professora do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, pela espontaneidade, ser humano atencioso, prestativo, amante da ciência que colaborou diretamente na realização das análises laboratoriais, na análise dos resultados e na orientação acadêmica.

À Profa. Dra. CAROLINA MELO DE SOUZA, professora da Unichristus, profissional competente, interessada e árdua colaboradora do Laboratório do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, realizadora das análises das amostras teciduais e estatística minuciosa e detalhada desta tese.

Ao Prof. Dr. MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO, professor titular do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará pelo valoroso e rápido apoio a esta tese, em momento crucial para o término das análises das amostras no laboratório.

À Profa. Dra. LÚCIA LIBANÊS BESSA CAMPELO BRAGA, professora do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Ceará, por colocar à disposição o laboratório de Biomedicina, tornando-o acessível o armazenamento das amostras e sua sensibilidade científica.

Ao Prof. Dr. CÍCERO IGOR SIMÕES MOURA SILVA, colaborador do Laboratório de Biomedicina da Universidade Federal do Ceará, por incentivar, oferecer infraestrutura à realização deste trabalho científico e correções metodológicas da tese.

Ao Prof. Dr. GUSTAVO REGO COELHO, professor do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, cirurgião do transplante hepático, por incentivar e colaborar na metodologia desta tese.

Aos colegas cirurgiões do transplante hepático: JOÃO BATISTA MARINHO DE VASCONCELOS, PAULO EVERTON GARCIA COSTA, AMAURY CASTRO E SILVA, DENISSA FERREIRA GOMES DE MESQUITA, WALYSSON SULIMÃ e LUIZ EDUARDO VERAS PINTO por partilharem os dias, madrugadas, noites, feriados e fins de semana em momentos de sublime trabalho.

Aos anestesistas da equipe do transplante hepático: MARCELO LIMA MONT'ALVERNE RANGEL, ANTONIO RUBENS CORDEIRO FILHO, FLÁVIO LOBO MAIA, DAVID SILVEIRA MARINHO, ROGER MONTENEGRO, MAX NEVES LEMOS e FRANCISCO ROMULO SAMPAIO LIRA.

Aos clínicos do transplante hepático: ANTONIO HAROLDO DE FILHO, TARCÍSIO DANIEL ROCHA, CYNTHIA FERREIRA GOMES VIANA, LÍVIA MELO CARONE LINHARES, EVELYNE SANTANA GIRÃO.

Aos intensivistas do transplante hepático ALBERTO HILL FURTADO, DIRK SCHEREEN.

Ao nosso patologista do transplante hepático, Prof. Dr. JOSÉ TELMO VALENÇA JÚNIOR, que sempre está disponível no crescimento científico da equipe e colaborador desta tese.

À Enfermeira Chefe do Ambulatório de Transplante Hepático da Universidade Federal do Ceará CLÉBIA AZEVEDO DE LIMA, por todo o apoio operacional e informações fornecidas para a realização deste experimento e por toda sua estrutura organizacional.

Aos enfermeiros do transplante hepático BARTOLOMEU ALVES FEITOSA NETO E MARIA JOSÉ NASCIMENTO FLOR, companheiros de sempre nas captações em Fortaleza e em viagens aéreas para doadores mais longínquos, tolerando minha impaciência.

À enfermeira do transplante hepático, LEDA FÁTIMA ROCHA MIRANDA e a psicóloga MARINEUZA MONTEIRO DA SILVA pelo suporte aos pacientes do ambulatório de transplantes.

Aos estudantes WALTER COLLYER BRAGA e JOÃO PAULO CARMO RODRIGUES que contribuíram na coleta dos dados laboratoriais desta tese.

A MARIA LUCIENE GOMES FONTENELE, secretária da pós-graduação do Departamento de Cirurgia, por sua competência, trabalho ativo, pelo seu bom humor e por todo apoio que tive durante todo o curso de pós-graduação. Assim como, da secretária MAGDA MARIA GOMES FONTENELE, que ratifica todos estes bons valores.

A todos os residentes de cirurgia geral, que participam da rotina do Serviço de Cirurgia Geral e do Serviço de Transplante Hepático da Universidade Federal do Ceará que dividem comigo as nuances técnicas dos procedimentos cirúrgicos.

A todas as enfermeiras, técnicas e auxiliares de enfermagem do Centro Cirúrgico do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, pela ajuda na coleta das biópsias e por todo trabalho ininterrupto prestado a esta Instituição.

Aos doadores de órgãos e seus familiares por gesto tão sublime em um momento de grande dor.

Aos pacientes transplantados que foram avaliados neste estudo em prol da ciência.

À Central de Transplantes de Estado do Ceará por fomentar cada dia mais a doação de órgãos em nosso Estado.

A todos que colaboraram direta e indiretamente a conclusão desta tese.

“...Sabemos Senhor, que de algum modo uma coisa nasce e morre , quando deixa de ser o que era e passa a ser o que não era. “Na tua palavra, nada aparece e desaparece, porque é realmente imortal e eterna...”  
(Santo Agostinho, Confissões,p. 333)

## RESUMO

Título: Pré-condicionamento com l-alanil glutamina sobre o estresse oxidativo e inflamação em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado

Tese de Doutorado

Autor: Marcos Aurélio Pessoa Barros

Orientador: José Huygens Parente Garcia

Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da  
Universidade Federal do Ceará

No transplante hepático, a lesão de isquemia / reperfusão pode ocasionar severo dano ao enxerto. O objetivo deste estudo é avaliar os efeitos do pré-condicionamento com L-alanil glutamina na proteção do enxerto nos pacientes submetidos ao transplante de fígado. Foram avaliados 33 pacientes submetidos a transplante hepático no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) da Universidade Federal do Ceará (UFC), no período de 22/05/13 à 11/12/2013. Foi realizado um estudo prospectivo, duplo cego, com dois grupos. No grupo glutamina, foram administrados 50 gramas de L-alanil glutamina, por injeção direta na veia porta dos doadores, 40 minutos antes do início da isquemia fria e no grupo controle, foi administrada solução salina. Foram avaliados a idade do doador, grau de esteatose do enxerto, tempo de isquemia quente (TIQ), tempo de isquemia fria (TIF), escore MELD, sobrevida do enxerto e mortalidade operatória do receptor. Biopsias do enxerto foram realizadas no início da cirurgia do doador, no início da isquemia quente e no final do transplante. Com essas amostras, foram dosados as concentrações hepáticas de MDA (malanodialdeído), HSP70, NFkB, SOD e glutathione. No doador de múltiplos órgãos, foram dosados no sangue, AST, ALT, INR e bilirrubinas. No receptor, foram dosados no sangue, AST, ALT, INR e bilirrubinas, na admissão no hospital, no início da isquemia quente, no final do transplante, no 1º dia pós-operatório (PO), no 3º PO, no 5º PO, no 7º PO e no 30º PO. Não houve diferença entre os dois grupos com relação à idade do doador, idade do receptor, TIQ, TIF, MELD e grau de esteatose. Os resultados dos exames séricos foram semelhantes nos dois grupos. No grupo glutamina, MDA no enxerto, não apresentou diferença no início da isquemia quente, entretanto, ocorreu diminuição no final do transplante. Esse fenômeno não ocorreu no grupo controle. A glutathione, SOD, HSP70, NFkB foram semelhantes nos dois grupos. Este estudo sugere que o pré-condicionamento com L-Alanil glutamina minimiza os efeitos do estresse oxidativo causados pela isquemia e reperfusão, com a redução da peroxidação lipídica no enxerto dos pacientes submetidos ao transplante hepático.

**Palavras-chave:** enxerto hepático, glutamina, isquemia/reperfusão, estresse oxidativo.

## ABSTRACT

Title: L-alanyl glutamine preconditioning on oxidative stress and inflammation in graft patients who underwent liver transplantation

Author: Marcos Aurélio Pessoa Barros

Advisor: José Huygens Parente Garcia

Graduate Program in Surgery, Department of Surgery

Federal University of Ceará

In liver transplantation, ischemia/reperfusion may cause serious injury to the graft. The aim of this study was to evaluate the effects of preconditioning with L-alanyl-glutamine in graft protection in patients undergoing liver transplantation. 33 patients undergoing liver transplantation at the Walter Cantídio University Hospital (HUWC) of the Federal University of Ceará (UFC), from 05/22/13 to 12/11/2013 were evaluated. A prospective, double-blind, divided into two groups was performed. In glutamine group was administered 50 g of L-alanyl glutamine, 40 minutes before the start of cold ischemia, the control group, saline solution was administered. Donor age, degree of graft steatosis, warm ischemia time (WIT), cold ischemia time (CIT), MELD score, graft survival, and receptor mortality were evaluated. Graft biopsies were performed at the beginning of donor surgery at the beginning of warm ischemia and at the end of transplantation. With these samples, MDA (malondialdehyde), HSP70, NFkB, SOD and glutathione were measured. In multiple organ donor, were measured AST, ALT, bilirubin and INR. The same parameters in the receiver, were measured on admission in the hospital at the beginning of warm ischemia, at the end of transplantation in the 1st postoperative day (POD), in the 3rd, the 5th, on the 7th and 30th POD. There was no difference between the two groups with respect to donor age, receiver age, CIT, WIT, MELD and degree of steatosis. The results of serum tests were similar in both groups. In the Glutamine group, MDA in the grafting did not increase at the beginning of warm ischemia and impairment occurred at the end of transplantation. This phenomenon did not occur in the control group. Glutathione, SOD, HSP70, NFkB were similar in both groups. This study suggests that preconditioning with glutamine minimizes the effects of oxidative stress caused by ischemia and reperfusion, with decreased lipid peroxidation in the graft of patients undergoing liver transplantation.

**Keywords:** liver graft, glutamine, ischemia/reperfusion, oxidative stress

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Glicólise.....	<b>22</b>
<b>Figura 2</b>	Cadeia transportadora de elétrons.....	23
<b>Figura 3</b>	Rota Antioxidante.....	<b>24</b>
<b>Figura 4</b>	Sistema Tireodoxina-Peroxiredoxina.....	25
<b>Figura 5</b>	Produção das ROS e Sistema Antioxidante.....	<b>26</b>
<b>Figura 6A</b>	Concentração tissular de glutaciona no enxerto hepático em B0, B1, B2, comparando os grupos controle e glutamina.....	57
<b>Figura 6B</b>	Concentração tissular de glutaciona no enxerto hepático em B0, B1, B2 nos grupos controle e glutamina versus B0.....	58
<b>Figura 7A</b>	Concentração tissular de MDA no enxerto hepático comparando os dois grupos controle e glutamina.....	59
<b>Figura 7B</b>	Concentração tissular de MDA no enxerto hepático dos dois grupos (controle e glutamina) versus B0.....	60
<b>Figura 8</b>	Concentração tissular de SOD no enxerto hepático nos grupos controle e glutamina.....	61
<b>Figura 9</b>	Concentração tissular de HSP 70 no enxerto hepático nos grupos Controle e Glutamina.....	62
<b>Figura 10</b>	Concentração tissular de NFkB no enxerto hepático nos grupos Controle e Glutamina.....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Características dos doadores .....	50
<b>Tabela 2</b>	– Características dos receptores.....	51
<b>Tabela 3</b>	– Tempo de Isquemia.....	52
<b>Tabela 4A</b>	Valores de AST dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).....	52
<b>Tabela 4B</b>	Valores de AST comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.....	53
<b>Tabela 5A</b>	Valores de ALT dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).....	53
<b>Tabela 5B</b>	Valores de ALT comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.....	54
<b>Tabela 6A</b>	Valores de INR dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).....	54
<b>Tabela 6B</b>	Valores de INR comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.....	55
<b>Tabela 7A</b>	Valores de bilirrubina total dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).....	55
<b>Tabela 7B</b>	Valores de bilirrubina total comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTO – Associação Brasileira de Transplante de Órgãos  
ADP- Adenosina difosfato  
Akt- Moléculas sinalizadoras intracelulares  
ALT – Alanina Aminotransferase  
AMP- Adenosina-monofosfato cíclico  
AP-1- Proteína 1 ativadora  
AST – Aspartato Aminotransferase  
ATP- Adenosina Trifosfato  
AVC – Acidente Vascular Cerebral  
CAT- Catalase  
COX- Cicloxigenase  
DAMP- *Damage-associated molecular pattern molecules*  
DNA- Ácido desoxirribonucleico  
DP- Desvio padrão  
DPE – Disfunção primária do enxerto  
PO- Pós-operatório  
ICAM- Molécula de adesão intercelular  
eNOS- Oxido nítrico sintetase endotelial  
EPM – Erro Padrão Médio  
Gcl- Glutamato cisteína ligase  
GPx- Glutathione Peroxidase  
GRWT- Taxa de peso enxerto receptor  
GSH- Glutathione reduzida  
HGMGB- Fator de transcrição nuclear de alta mobilidade  
HIF- Fator indutor de hipóxia  
HMGB- Proteína de alta mobilidade  
HMP- Máquina de perfusão hipotérmica  
HO- Hemi-oxigenase  
HSP- *Heat shock factor* (Proteína do choque térmico)  
HUWC – Hospital Universitário Walter Cantídio  
IHIO- Hepatectomia do doador em transplante de doador vivo  
IκB- *regulatory protein that inhibits NF-kappa-B*

Il- Interleucina-1  
iNOS- Oxido nítrico sintase induzida  
INR- *International Normalized Ratio*  
I/R- Isquemia/reperfusão  
JNK- c Jun N- terminal quinase  
LDH- Desidrogenase Láctica  
LPO- Peroxidação lipídica  
MAPk- Proteína quinase  
MCP- Proteína quimiotóxica do monócitos  
MDA- Malanodialdeído  
MELD – *Model End-Stage Liver Disease*  
MPO- Mieloperoxidase  
MPT- Poros de transição mitocondrial  
NAC- N-acetil cisteína  
NAD- Nicotinamida adenine dinucleotídio  
NADPH- Nicotinamida adenine dinucleotídio fosfatase reduzida  
NFkB- Fator nuclear *Kappa beta*  
NO- Oxido Nítrico  
Nrf- Fator nuclear eritróide  
OSI- Index de estresse oxidativo  
PAMP- Moléculas de padrões associadas a patógenos  
PHD- *Prolyl hidroxilase*  
PRP – Receptores de reconhecimento padrão  
PO- Pós-operatório  
RAGE- *Receptor advanced glycation end products*  
RBT – Registro Brasileiro de Transplantes  
RNA- Ácido Ribonucleico  
RNS- Espécie reativa de nitrogênio  
ROS- Espécie reativa de oxigênio  
SEC- Células Sinusoidais Endotelias  
SOD- Super óxido dismutase  
STAT- Transdutor, sinalizador e ativação de transcrição  
TAC- Capacidade total oxidante  
TAP – Tempo de Atividade de Protrombina

TBARS- Ácido Tiobarbitúrico  
Th1- Células T *help* tipo 1  
Th2- Células T *help* tipo 2  
TIF – Tempo de Isquemia Fria  
TIQ – Tempo de Isquemia Quente  
TLR- *Toll Like Receptor*  
TNF-alfa- Fator de necrose tumoral  
TOS- estresse oxidativo total  
UCLA- Universidade da Califórnia  
UFC – Universidade Federal do Ceará  
U/L – Unidade Internacional por Litro  
U/kg – Unidade por quilo  
UTI- Unidade de terapia Intensiva  
VCAM- Molécula de adesão vascular  
VHL- Von Hippel Lindau  
VSOP- Insuflação de oxigênio sistêmico venoso

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1</b>	Hipóxia .....	19
<b>1.2</b>	Estresse Oxidativo .....	20
<b>1.3</b>	Isquemia e Reperfusão do Fígado.....	28
<b>1.4</b>	HSP- <i>Heat shock factor</i> (Proteína do choque térmico).....	32
<b>1.5</b>	MELD – <i>Model End-Stage Liver Disease</i> .....	33
<b>1.6</b>	Estratégias para minimizar a lesão de Isquemia Reperfusão hepática.....	34
<b>1.7</b>	Glutamina.....	40
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1</b>	Desenho do Estudo.....	44
<b>3.2</b>	Hepatectomia do doador.....	47
<b>3.3</b>	Transplante do Receptor pela técnica de <i>Piggyback</i> .....	47
<b>3.4</b>	Análise Estatística.....	48
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1</b>	Características dos doadores.....	49
<b>4.2</b>	Características dos receptores.....	50
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>72</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>89</b>
	<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>100</b>
	<b>ANEXO A.....</b>	<b>103</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A lesão de isquemia/reperfusão pode ser responsável diretamente pela disfunção primária do enxerto hepático (DPE). É associada com o dano por espécies reativas de oxigênio (ROS) e o dano celular endotelial sinusoidal é o ponto central da fisiopatologia da lesão do enxerto (DESCHENES, 2013; CLAVIEN et al., 1998).

A liberação das ROS é um dos primeiros e mais importantes componentes da lesão tecidual depois da reperfusão de órgãos isquêmicos e é o principal contribuinte para a morte do hepatócito. Existem evidências que as ROS são mediadores críticos da lesão hepática, durante a isquemia/reperfusão, associados com o transplante hepático ou do microambiente resultado de inflamação hepática ou infecção. Além do mais, a produção endógena de ROS pela mitocôndria leva a apoptose e necrose do hepatócito durante a hipóxia e a reperfusão (BROGAL et al., 2010).

A gravidade das consequências do período de isquemia na função do enxerto hepático é também enaltecida em estudo recente da Universidade de Los Angeles, que visando o aumento do número de doadores, avaliou as complicações utilizando doador pós-parada cardíaca. Neste grupo, foi observado maior repercussão da síndrome de isquemia/reperfusão e hipercalemia (PAN et al., 2014).

A ação recíproca entre fatores do hospedeiro e do doador afetando a isquemia fria e isquemia quente, entretanto, é pouco entendida. Fatores de risco do receptor incluem idade avançada, elevação dos valores de bilirrubina, INR (*international normalized ratio*) e creatinina, acidose, transplante em caráter de urgência e internação em unidade de terapia intensiva (UTI). O escore MELD (*Model End-Stage Liver Disease*) tenta contemplar, direta ou indiretamente, a maioria destes fatores. Fatores de risco no doador incluem idade, tempo de isquemia fria, esteatose hepática e tempo de internamento em UTI (DESCHENES, 2013).

A disfunção precoce do enxerto tem grande impacto no prognóstico e na sobrevivência dos pacientes pós-transplante hepático (MOR et al., 1992; PLOEG et al., 1993; POKORNY et al., 2000). A incidência de disfunção do enxerto é de até 27 % depois do transplante hepático de doador falecido (LOCK et al., 2010). A função hepática é influenciada por vários fatores, incluindo qualidade do enxerto, tempo de isquemia, reperfusão do enxerto e aspectos imunológicos. Então, a falência do enxerto é uma condição multifatorial. A não função primária do enxerto é definida como uma forma grave da lesão de reperfusão, resultando em uma falência irreversível sem detecção de nenhuma causa técnica ou imunológica (CLAVIEN

et al., 1992; BURTON; ROSEN, 2006). Essa é a causa mais comum de retransplante precoce (CLAVIEN et al., 1992), com uma incidência de 4% a 8% na literatura (LOCK et al., 2010).

Atualmente, a disfunção do enxerto é usualmente diagnosticada pela combinação de vários métodos, tais como bioquímicos (AST, ALT, bilirrubina, amônia), produção biliar e necessidade de reposição de fatores de coagulação, e encefalopatia (PLOEG et al., 1993; POKORNY et al., 2000; BERNUAU et al., 1986; BALZAN et al., 2005; MARING et al., 1997; DESCHENES et al., 1998; GONZALEZ et al., 1994; NANASHIMA et al., 2002; ROSEN et al., 1998). Entretanto, estes parâmetros são limitados em demonstrar e prever a disfunção do enxerto (MARING et al., 1997).

Outros autores, recentemente, relacionaram as soluções de perfusão utilizadas atualmente para diminuir o efeito da isquemia fria e avaliaram particularidades e vantagens de cada uma destas soluções para preservação de órgãos em relação à sobrevida do enxerto (PARSONS; GUARRERA, 2014).

Como existe uma desproporção entre o número de doadores e receptores, há necessidade de expansão dos critérios de doação, com a finalidade de diminuir o tempo em lista de espera (DESCHENES, 2013). Um problema é a viabilidade do funcionamento do enxerto. Embora um aumento razoável das transaminases seja um evento benigno, disfunção grave do enxerto requer retransplante de emergência (DESCHENES, 2013). Vários índices de dano hepatocelular são usados para demonstrar a função inicial do enxerto hepático (DESCHENES et al., 1998; OLTHOFF et al., 2010). Os critérios de definição de função hepática foram definidos com os marcadores hepáticos durante a primeira semana pós operatória do transplante hepático, e são a bilirrubina, o tempo de protombina, e a presença de encefalopatia hepática (DESCHENES et al., 1998). Olthoff et al. (2010), validou uma versão sobre disfunção precoce do enxerto na era MELD de alocação de órgãos: bilirrubina acima de 10 mg/dl no 7º PO, INR >1,6 no 7º PO, AST ou ALT >2000 IU/l dentro dos primeiros sete dias após o transplante (LOCK et al., 2010; OLTHOFF et al., 2010).

Deschernes (2013), do *Royal Victoria Hospital* de Quebec, em artigo de revisão, evidenciou uma incidência de 23,2% dos receptores com disfunção primária do enxerto (DPE). Desse grupo, 18,8% faleceram, enquanto somente 1,8% dos receptores sem DPE evoluíram para óbito. A taxa de perda do enxerto foi de 26,1% com pacientes com DPE e de 3,5% para pacientes sem DPE.

A redução dos efeitos da lesão da isquemia/reperfusão tem sido um dos alvos dos trabalhos científicos e foram propostos para este fim, o pré-condicionamento isquêmico, a

modificação das soluções de preservação e o uso de antioxidantes (JAESCHKE; WOLLBRIGHT, 2012; PATEL et al., 2014).

O foco da neutralização da geração de ROS pelos hepatócitos com a utilização de substâncias antioxidantes pode oferecer um tratamento adjuvante importante na lesão de isquemia/reperfusão e doenças inflamatórias (ROSENFELDT et al., 2013). A glutamina, um aminoácido precursor da glutatona, que é um potente antioxidante natural, tem mostrado ser promissora em combater estes efeitos nocivos do estresse oxidativo (ZHANG et al, 2013).

## 1.1 Hipóxia

Os mamíferos têm mecanismos oxigênio sensíveis que ajudam rapidamente a se adaptar a hipóxia por aumento da respiração, do fluxo sanguíneo e de respostas de sobrevivência. Persistindo um inadequado suprimento de oxigênio, outros mecanismos adicionais tentam restaurar o fluxo de oxigênio ou ajudar o organismo a se adaptar à hipóxia (ELTZSCHIF; CARMELIET, 2011; SEMENZA et al., 2007).

O conceito de que a hipóxia pode induzir a inflamação tem ganhado aceitação geral de estudos sobre diferentes vias de sinalização. Em estados patológicos, os pacientes, por exemplo, aumentam níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias e ocorre o extravasamento de fluidos do espaço vascular, causando edema pulmonar e cerebral (SEMENZA et al., 2007; HACKETT; ROACH, 2001; GROCOTT et al., 2000). Um aumento dos níveis de interleucina-6, da proteína C reativa e de todos marcadores da inflamação, foram evidenciados em voluntários saudáveis que estiveram em altas altitudes (HARTMANN et al., 2000).

O desenvolvimento de inflamação em resposta a hipóxia é clinicamente relevante. A isquemia em enxertos para transplante aumenta o risco de inflamação e falência do enxerto ou rejeição do órgão (KRUGER et al., 2009). Em pacientes submetidos a transplante renal, a expressão do “*toll like receptor*” (TLR-4) se correlaciona com o grau de lesão isquêmica (ELTZSCHIF; CARMELIET, 2011). Contribuem para a hipóxia tecidual durante a inflamação, um aumento das demandas metabólicas das células e redução dos substratos, além do mais, a multiplicação de patógenos extracelulares podem privar de oxigênio as células infectadas (KEMPF et al., 2005).

A adaptação celular à hipóxia depende do fator de transcrição HIF (Fator Indutor de Hipóxia), que está inativado quando o oxigênio é abundante, mas está ativo em condições de hipóxia (KAELIN; RATCLIFFE, 2008). A resposta celular a hipóxia é mediada em nível

molecular pelo HIF (BAGNALL et al., 2014). O HIF pode ser ativado em condições normais, o que permite iniciar uma resposta inflamatória antes do tecido tornar-se hipóxico. A prolyl hidroxilase (PHD) hidroxila o HIF (CASH et al., 2007; KNOWLES et al., 2006).

Membros da família dos fatores de transcrição do fator nuclear Kappa beta (NFκB), regulam a inflamação e orquestram a resposta imunológica e a homeostase tecidual (NAUGLER; KARIN, 2008; PASPARAKIS, 2008). Membros desta família interagem com membros da via PHD-HIF 1 alfa e fazem a conexão da inflamação à hipóxia (TAYLOR, 2008). A hipóxia da isquemia/reperfusão intestinal ativa o NFκB no epitélio e aumenta a produção do fator de necrose tumoral (TNF-alfa), as citocinas pró- inflamatórias, mas simultaneamente atenua a apoptose intestinal epitelial (CHEN, 2003). A hipóxia amplifica a via NFκB por aumento da expressão e sinalização dos TLRs, estimulam a fagocitose, o recrutamento dos leucócitos e a imunidade adaptativa (KUHLLICKE et al., 2007).

Hipóxia e inflamação são entrelaçadas a nível molecular, celular e clínico. Mecanismos oxigênio dependente e sinalização de hipóxia são potenciais terapia alvo para as doenças inflamatórias. O valor desta abordagem pode ser testado em pacientes com lesão aguda pulmonar, isquemia miocárdica, doença inflamatória intestinal, ou câncer. Atingir as vias de sinalização hipóxia dependente pode também ajudar a atenuar a falência dos órgãos por isquemia em pacientes submetidos a grandes cirurgias ou aliviar a inflamação dirigida por hipóxia em enxertos após transplante de órgãos sólidos (ELTZCHIF; CARMELIET, 2011).

## **1.2 Estresse Oxidativo**

As espécies reativas de oxigênio (ROS) desempenham um importante papel na função celular normal. Quando ROS são produzidos em excesso, podem ter efeitos deletérios, um estado chamado estresse oxidativo. O estresse oxidativo representa um balanceamento desregulado da produção de ROS e a habilidade do mecanismo de defesa para neutralizar sua reação. Um excesso de ROS pode danificar todos componentes celulares, incluindo proteínas, lipídios e ácidos nucleares. Oxidação moderada pode ativar apoptose, e uma oxidação intensa pode causar necrose (ROSENFELDT et al., 2013). Dentro da célula, ROS são gerados de uma diferente forma de alcance, incluindo ativação do citocromo C, NADPH (nicotina adenina dinucleotídeo), oxidases, xantina oxidase, alteração na regulação da eNOS (óxido nítrico sintetase endotelial) e extravasamento mitocondrial. Durante este processo metabólico normal, a mitocôndria desempenha um papel fisiológico essencial no metabolismo por suprir energia para função celular adequada (FERNANDEZ-CHECA et al.,1998; VALKO et

al.,2007). Este metabolismo envolve várias reações de óxido-redução (redox), onde a remoção (oxidação) ou adição (redução) de elétrons ocorrem em ordem para manter homeostasia celular. Entretanto, o desequilíbrio do metabolismo ROS, particularmente dentro da mitocôndria, pode ter graves consequências para função mitocondrial e integridade celular. De fato, uma conexão tem sido estabelecida entre a função mitocondrial, elevação da produção de ROS mitocondrial e graves patologias como a disfunção endotelial (WIDLANSKY; GUTTERMAN, 2011), neurodegeneração (ORSUCCI et al.,2011), envelhecimento celular (TERZIOGLU; LARSSON,2007), dano associado com isquemia/reperfusão cerebral (CHEN et al., 2003) , diabetes (NAUDI et al.,2012) e suas complicações (FORBES et al.,2008). Muitos dos efeitos danosos da produção mitocondrial de ROS podem surgir de suas interações com proteínas mitocondriais (GU et al., 2010), assim como o DNA mitocondrial (mt-DNA) ( COSTA et al., 2011).

Moléculas com elétrons não pareados são referidas como oxidantes ou radicais livres e as espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio, podem desempenhar importante papel fisiológico, não somente no sinal celular, mas quando presentes em mais altas concentrações, podem levar a lesão celular (MAK; NEWTON, 2001). Durante reações metabólicas regulares, o oxigênio molecular é usado para gerar adenosina trifosfato (ATP) de adenosina difosfato (ADP), um processo conhecido como fosforilação oxidativa. No entanto, esse processo resulta na geração do radical superóxido ( $O_2^-$ ) (OBAYAN, 2004) (Figura 1 e Figura 2).

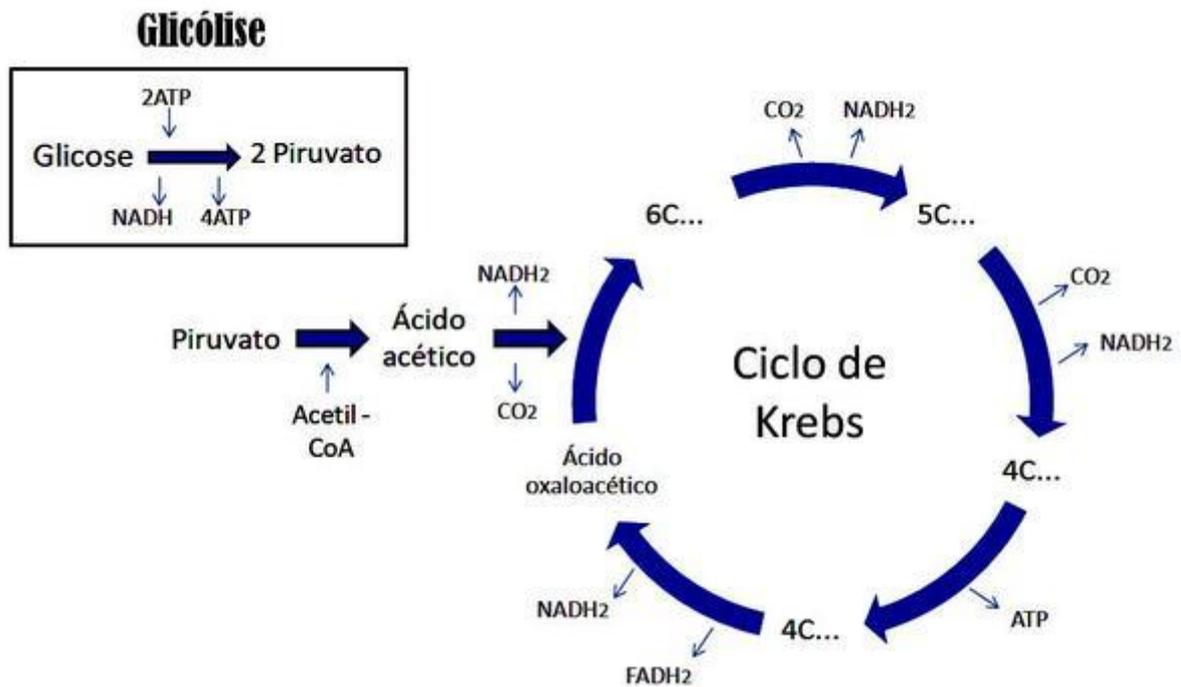
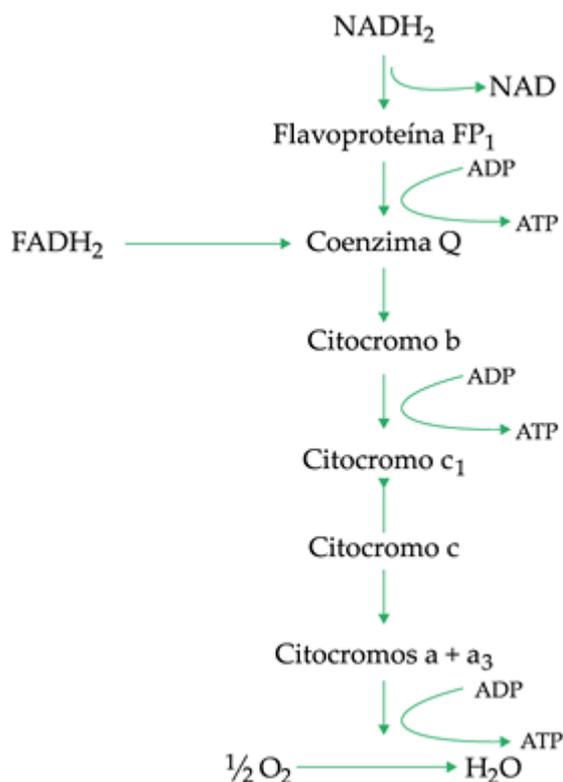


FIGURA 2 - Cadeia Transportadora de Elétrons (fosforilação oxidativa) – geração de 34 ATPs e superóxido (O<sup>-</sup>)



Em baixas concentrações, essas ROS desempenham importante papel na função celular normal. Por exemplo, ROS como os ânions superóxidos, radicais hidroxilas e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> são envolvidos na resposta as condições nocivas como hipóxia e destruição de células infectadas com vírus. Espécies reativas de nitrogênio (RNS), como óxido nítrico (NO), produzido via óxido nítrico sintetase, influenciam o tônus vascular e inflamação (COOKE et al., 2003; VALKO et al., 2007). Dados recentes sugerem um importante papel das ROS nos processos de autofagia e de sobrevivência, onde células removem as mitocôndrias danificadas, proteínas não desenroladas e metabólitos tóxicos. Nesse processo, ROS disparam resposta precoce no processo de autofagia por eliminação de fontes de estímulos pró-apoptose (MARCHI et al., 2012). Entretanto, a produção excedente destes ROS/RNS resulta em destruição de proteínas, DNA e lipídios que podem levar ao dano celular. Além do mais, ROS são conhecidas por afetar as rotas pró-apoptóticas (MARCHI et al., 2012).

Para prevenir o dano celular, o organismo tem desenvolvido mecanismos de defesa endógena para combater os efeitos destrutivos do estresse oxidativo (SIES et al., 1997; VALKO et al., 2007). Para adquirir um nível de homeostase celular ou “equilíbrio redox”, vários sistemas de defesas intrínsecas envolvendo vias enzimáticas ou não enzimáticas com

mecanismos de defesa e reparo são envolvidos (SIES et al., 1997; VALKO et al., 2007). Os antioxidantes celulares mais estudados talvez sejam as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase e glutaciona peroxidase (GPx). Essas enzimas localizadas nas células e fluidos corporais trabalham juntas para prevenir dano por limitar os níveis de ROS. A partir da rota antioxidante, SOD acelera a conversão de superóxido para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no primeiro passo, enquanto a catalase e GPx converte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em água no segundo passo da via (FINKEL; HOLBROOK, 2000). (Figura 3).

FIGURA 3 - Rota Antioxidante

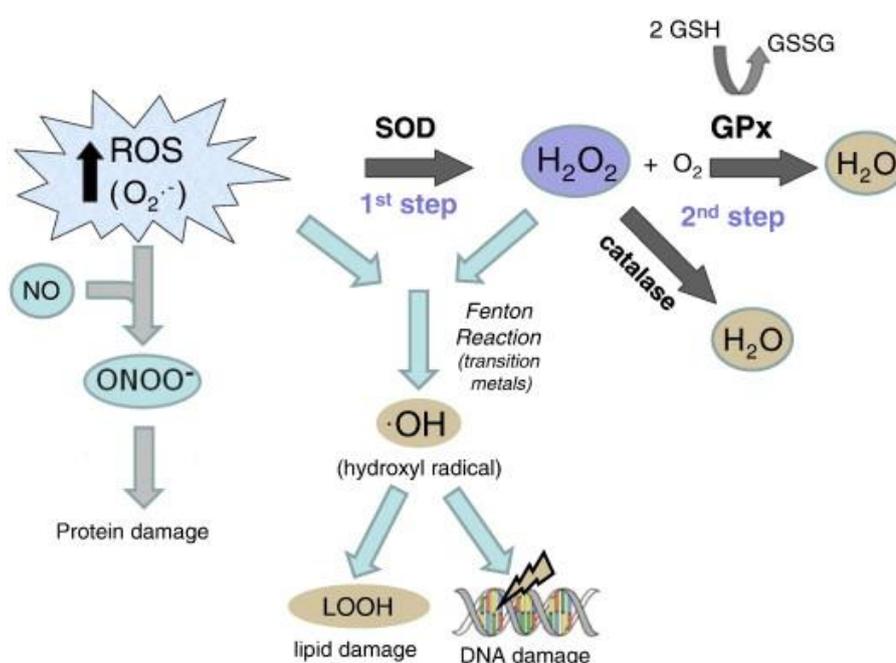
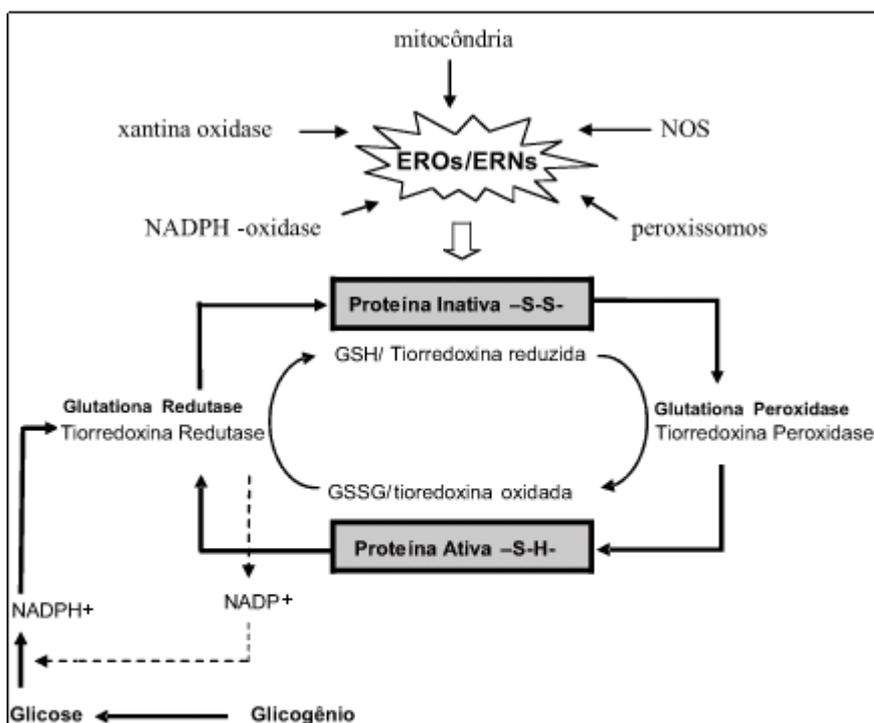


Figura 3. GPx (glutaciona peroxidase) GR (glutaciona redutase) GSH (glutaciona reduzida) GSSG (glutaciona oxidada).

O sistema tiorredoxina peroxiredoxina de enzimas antioxidantes é outro sistema de particular relevância para neutralização de ROS e manutenção da homeostasia celular (KANG et al., 1998) (Figura 4). Além do mais, antioxidantes não enzimáticos, como os componentes fenólicos, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (alfa-tocoferol) e glutaciona conferem proteção por converter oxidantes para produtos finais não radicais ou transferindo radicais para áreas onde o defeito é menos danoso (exemplo: de um hidrofóbico para fase aquosa) (SIES et al., 1997). O ciclo glutaciona redox, por exemplo, quebra as cadeias de reações que formam espécies por diminuir os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e conseqüentemente, diminuir a formação do radical hidroxila (FERNANDEZ-CHECA et al., 1998).

FIGURA 4 - Sistema Tiorredoxina Peroxiredoxina



**Figura 4.** Efeito do sistema glutatona/tiorredoxina peroxidase na manutenção do estado redox (-SH-) de proteínas intracelulares suscetíveis a oxidação por Espécies reativas de oxigênio (espécies reativas de oxigênio) e ERNs (espécies reativas de nitrogênio). NOS, óxido nítrico sintase; GSH, glutatona reduzida; GSSG, glutatona oxidada; NADPH<sup>+</sup>, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida; NADP<sup>+</sup>, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidada.

Durante metabolismo normal, envelhecimento celular, estados patológicos ou cirurgia, ROS, como também o ânion superóxido altamente reativo, são produzidos via ativação de produtores específicos de ROS, assim como NADPH oxidases, xantina oxidases e/ou por extravasamento mitocondrial (FIGURA 5).

FIGURA 5- Produção das ROS e Sistema Antioxidante

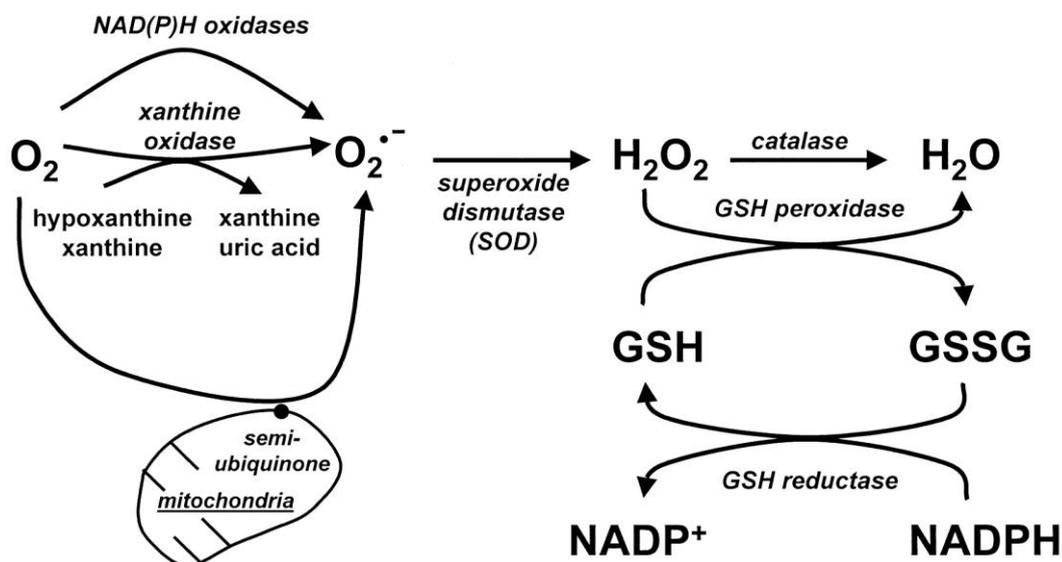


Figura 5: GPx (glutathiona peroxidase) GR (glutathiona redutase) GSH (glutathiona reduzida) GSSG (glutathiona oxidada) NADP (Nicotinamida adenina dinucleotídeo). NADPH (Nicotina adenina dinucleotídeo fosfatase).

As duas vias antioxidantes envolvem a conversão de  $O_2^{\bullet -}$ , para  $H_2O_2$  por SOD no primeiro passo, e por GPx e/ou catalase para água no segundo passo. A interação de  $O_2^{\bullet -}$  ou  $H_2O_2$  com metais de transição conduz a formação de radical hidroxila (OH) via reações tipo Fenton. Este radical altamente tóxico interage com a membrana lipídica causando dano aos lipídios. O aumento nas defesas antioxidantes, em particular GPx e/ou catalase, pode superar os efeitos danosos por diminuir a quantidade de  $H_2O_2$  disponíveis para formar radicais OH (ROSENFELDT et al.,2013).

A atividade de ROS é geralmente mensurada indiretamente por medidas de metabólitos de ROS ou por aferir os vários produtos finais derivados da interação destes radicais com componentes celulares como lipídios, aminoácidos e DNA. Por exemplo, a concentração do radical superóxido é dependente da concentração de óxido nítrico. Mudanças no nível de óxido nítrico durante reperfusão de tecidos isquêmicos durante procedimento cirúrgico são, portanto, mensurados como evidência de aumento de estresse oxidativo (MARCZIN,2005).

A peroxidação lipídica tem sido amplamente estudada e os ácidos graxos peroxidados podem ser detectados no plasma por várias técnicas. Malondialdeído (MDA) é um produto estável da peroxidação lipídica, derivado da decomposição de peróxidos instáveis de ácidos graxos poli-insaturados. A concentração de MDA livre pode ser determinada por cromatografia. MDA pode ser quantificada colorimetricamente seguindo sua reação controlada com ácido tiobarbitúrico (T BARS). Por isto, a TBARS é o método padrão de detecção de lesão oxidativa dos tecidos envolvendo a peroxidação lipídica (ZHANG et al., 2013).

Quando a oferta de oxigênio é limitada nos tecidos de órgãos vitais por hipoperfusão, as células mudam do metabolismo aeróbio para o anaeróbio, portanto baixam a carga energética celular. Como resultado, ocorre hidrólise aumentada de ATP, um subsequente aumento dos níveis de AMP (adenosina monofosfato cíclico) e, finalmente, um acúmulo de metabólitos de purina são encontrados nos tecidos isquêmicos. Ao mesmo tempo, a xantina desidrogenase é convertida para xantina oxidase, tanto por oxidação reversa ou degradação proteolítica irreversível.

Durante a reperfusão, com o oxigênio sendo reintroduzido, ocorre produção de urato, derivado das purinas e pode ocorrer também a formação de radicais superóxido. Este superóxido pode então, secundariamente, gerar o altamente tóxico radical hidroxila, facilitado pela via de reação catalisada por ferro. Reperfusão dos tecidos isquêmicos pode gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), principalmente por atividade da xantina oxidase. Portanto, durante a ativação dos neutrófilos, macrófagos e outras células imunocompetentes, as ROS podem ativar a membrana plasmática associada ao sistema NADPH oxidase capacitado para oxidar NADPH para NAD<sup>+</sup>, levando a uma maior geração de radicais superóxido. Dismutação espontânea de radicais superóxido produzem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> no pH fisiológico (HEYLAND et al., 2006).

As ROS levam não somente a dano celular importante, mas também ativam a liberação de citocinas que ativam a cascata inflamatória. Radicais livres ativam macrófagos residentes ou células de Kupfer que liberam citocinas inflamatórias (TNF, Interleucina 1, interleucina 6). Estes mediadores pró-inflamatórios induzem a ativação e o influxo de células inflamatórias (monócitos e leucócitos) nos tecidos e órgãos, e podem diretamente causar disfunção mitocondrial levando à isquemia e lesão tecidual. Além do mais, a ativação dessas células pode produzir grandes quantidades de radicais livres de oxigênio, gerando um ciclo de inflamação, ativação celular e geração de ROS (HEYLAND et al., 2006).

### 1.3 Isquemia e reperfusão do fígado

A lesão de isquemia/reperfusão (I/R) resulta de um prolongado dano isquêmico seguido por restauração de perfusão sanguínea. Isto afeta todas as células dependentes de oxigênio como consequência de um fluxo sanguíneo interrompido. Estas células requerem fosforilação oxidativa mitocondrial para seu suprimento energético. Consequentemente, todos tecidos de metabolismo aeróbico são potenciais alvos da lesão de isquemia/reperfusão (TOLEDO-PEREYRA et al., 1975; BROGAL et al., 2010). A Lesão de isquemia/reperfusão hepática significativa é comumente consequência da oclusão portal prolongada seguida por reperfusão, realizada por procedimento eletivo ou como uma manobra de emergência (ABU-AMARA et al., 2010; KIM et al., 2008). O transplante de fígado é associado à lesão de isquemia/reperfusão. Aqui, a lesão é agravada durante a preservação hipotérmica e a subsequente reperfusão quente no implante do enxerto no receptor (ABU-AMARA et al., 2010; KUPIEC-WEGLINSKI; BUSUTTIL,2005) .

O grau de lesão isquêmica sustentada é dependente do tempo e da condição prévia do enxerto. Pacientes que se submeteram a curtos períodos intermitentes de isquemia tiveram menos disfunção hepática do que aqueles que tiveram períodos de isquemia contínua (GURUSAMY et al., 2009). Na forma moderada da lesão de isquemia/reperfusão, durante ressecções hepáticas, transaminases estão elevadas na circulação. Lesões mais severas levam à disfunção clínica do enxerto hepático e sua falência progressiva. Direta lesão I/R no fígado pode resultar em disfunção de diferentes órgãos, pulmões (TAKEUCHI et al., 2010), coração (WEINBROUM, 2005), rins (BEHRENDIS et al., 2008) e vasos sanguíneos (WEINBROUM, 2005) têm sido afetados secundariamente ou diretamente pela lesão hepática de I/R. Lesão continuada durante o transplante hepático, aumenta a incidência de não função primária do enxerto, disfunção primária do enxerto e estenoses biliares (PINE et al., 2009). A não função primária do enxerto, disfunção primária do enxerto, estenoses biliares e falência do fígado remanescente pós-ressecção aumentam a necessidade de um maior número de doadores (ROSENFELDT et al., 2013).

A lesão de I/R é um processo complexo envolvendo numerosos tipos celulares e mediadores em diferentes vias. O dano celular ocorre durante fases de isquemia e reperfusão. O resultado final é a morte celular via uma combinação de apoptose e necrose. O dano da isquemia/reperfusão surge quando o suprimento arterial é interrompido na temperatura normal do organismo, como acontece durante ressecções hepáticas. O dano da isquemia fria surge durante a perfusão gelada e armazenamento do enxerto hepático (ABU-AMARA et al., 2013).

Durante a fase de isquemia, como resultado de consumo de glicogênio e ausência de suprimento de oxigênio, células de Kupffer, células sinusoidais endoteliais (SECs) e hepatócitos sofrem com a ausência de produção da adenosina trifosfato (ATP) (SELZNER et al., 2007). A ausência de ATP ocasiona falência da bomba de sódio/potássio ATP dependente (Na/K adenosina trifosfatase – ATPase-) e subsequente acúmulo de Na<sup>+</sup> intracelular, edema e tumefação. As células de Kupffer e SECs tumefeitas combinadas com o aumento de vasoconstritores, endotelina e tromboxano A<sub>2</sub> e uma diminuição do vasodilatador óxido nítrico (PHILLIPS et al., 2009), levam ao estreitamento sinusoidal. Adicionalmente, na reperfusão, existe um aumento da adesão e agregação dos neutrófilos e plaquetas nos sinusoides. O resultado final é uma redução significativa do fluxo da microcirculação na reperfusão, incluindo algumas áreas com ausência completa de fluxo sanguíneo, que é conhecido como “*no reflow*”.

As células de Kupffer são os macrófagos residentes no fígado. Eles desempenham um papel importante na iniciação e propagação do dano e morte celular na lesão de isquemia e reperfusão (CABAN et al., 2002). As células de Kupffer são ativadas durante a fase isquêmica e, principalmente, na reperfusão. Na ativação, elas produzem radicais livres reativos, especificamente, espécies reativas de oxigênio (ROS) e citocinas pró inflamatórias incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa) e interleucina 1B (IL-1B) (LLACUNA et al., 2009). Essas ROS e citocinas têm amplos efeitos na iniciação e propagação da lesão de isquemia/reperfusão. Em adição as ROS recrutam e ativam linfócitos T CD4 (HANSCHEN et al., 2008), ativam SECs levando a expressão de moléculas de adesão superficial das células, estimulam hepatócitos a produzir ROS, contribuindo para o seu dano (TANIAI, 2004), e estimulam a adesão plaquetaria pelas SECs. As células de Kupffer são ativadas pelo sistema complemento (BILZER et al., 2002; BROCK et al., 2001). Ativação adicional das células de kupffer é causada por interferon  $\gamma$  (ITF- $\gamma$ ) produzido por células T CD4 e células T killer (CALDWELL et al., 2007).

Células endoteliais ativadas, hepatócitos e neutrófilos expressam moléculas de adesão da superfície celular. Nos neutrófilos, L-selectina e B2 integrinas (CD11b/CD18) aderem as moléculas 1 de adesão intercelular (ICAM 1) e molécula 1 de adesão vascular (VCAM-1) na superfície das SECs e hepatócitos (VADARNIAN et al., 2008). Na isquemia e reperfusão no fígado, entretanto, ocorre precoce acúmulo de neutrófilos nos sinusóides. Em respostas as citocinas de hepatócitos ativados e lesionados, os neutrófilos acumulados nos sinusóides usam as moléculas de adesão expressadas na superfície para ligar suas SECs e migrar através do endotélio para o parênquima. A ligação do CD11b/CE18 nos neutrófilos pelo ICAM-1 e

VCAM-1 nos hepatócitos disparam um aumento na produção de ROS através do sistema da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase (NADPH) oxidase com rompimento de vesículas citoplasmáticas que assistem a degradação da matriz extracelular e hepatócitos mortos, e hepatócitos viáveis lesionados (VADARNIAN et al., 2008).

Dois importantes fatores humorais participam da lesão de isquemia/reperfusão no fígado: o sistema complemento e as citocinas. Três vias contribuem para ativação do sistema complemento (ARUMUGAM et al., 2004). Uma vez ativado, o sistema complemento leva ao dano hepático direto por lise dos hepatócitos através da formação de complexo de agressão a membrana plasmática (FONDEVILA et al., 2008), ou por recrutamento de neutrófilos e células de Kupffer (MONTALVO et al., 2008).

Citocinas podem desempenhar um papel pró-inflamatório ou anti-inflamatório na lesão de reperfusão hepática. O TNF-alfa é um componente central da cascata de citocinas pró-inflamatórias, é produzido pelos hepatócitos e tem um efeito crucial na lesão de isquemia/reperfusão (PERALTA et al., 2001). Um desequilíbrio na auto-regulação do TNF na isquemia/reperfusão leva ao dano hepático e ativação da proteína 78 (ENA-78) e ROS, assim como ativação do fator nuclear Beta (NFkB), c Jun N-terminal quinase (JNK) e proteína quinase (MAPK) (SCHWABE et al., 2006). Em adição, o desequilíbrio na regulação do TNF leva a ativação das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1, P-selectinas (PERALTA et al., 2001; RAJESH et al., 2007). Através de diferentes mecanismos, todas estas moléculas são capazes de recrutar e ativar neutrófilos na lesão pós-isquêmica hepática. Além do mais, JNK e ROS são capazes de danificar a célula intra-hepática (SCHWABE et al., 2006).

As citocinas influenciam a expressão de várias moléculas que protegem ou exacerbam a lesão de isquemia/reperfusão. Cada uma dessas moléculas pertence a grupos que compartilham funções semelhantes. Dentre essas, existem os fatores de transcrição (proteína 1 ativadora -AP-1-), proteína do choque térmico (*heat shock factor* -HSP), NFkB, transdutor sinalizador e ativação de transcrição -3 (STAT-3 e STAT-6), antioxidantes, superóxido dismutase (SOD), glutatona, moléculas de adesão (I-CAM-1, E-selectina), enzimas induzidas para estimular a inflamação (COX-2, NO sintase induzida (iNOS) e HO-1), como também moléculas sinalizadoras intracelulares (Akt), proteínas anti apoptóticas (Bcl-2, Bcl-x), exercendo seus efeitos na permeabilidade da mitocôndria e quimiocinas (CINC, ENA-78, IP-10, MCP-1, MIG, MIP-2). Estas últimas são citocinas quimiotáticas que regulam a acumulação de neutrófilos, monócitos, macrófagos e linfócitos T no fígado pós-isquêmico (ABU-ARAMA et al., 2010).

As moléculas padrões associadas ao perigo (DAMPs) agem como constituintes de células ou do ambiente extracelular. DAMPs são também liberados passivamente por células necróticas ou por dano a matriz extracelular, ou são ativamente secretadas por células em estresse ou células danificadas. As DAMPs incluem a proteína alta mobilidade grupo caixa 1 (HMGB1), ácido hialurônico, proteína S100, proteínas do choque térmico 60 (HSP60) e HSP70 (HOWELL et al., 2014; LOTZE et al., 2007). Essas proteínas têm a habilidade de iniciar e propagar uma resposta inflamatória de uma maneira análoga às moléculas de padrões associadas a patógenos (PAMPs). PAMPs são moléculas conservadas em vários patógenos procarióticos, mas não em mamíferos, e são, portanto, reconhecidas como estranhas para as células no sistema imune natural do hospedeiro, levando-o a iniciar uma resposta imune (KLUNE et al., 2008).

DAMPs e PAMPs exercem seus efeitos por se ligarem a grupos de receptores denominados receptores de reconhecimento padrão (PRRs), tanto na superfície ou no citoplasma das células dos mamíferos. PRRs são expressos nas células do sistema imune natural e iniciam uma resposta inflamatória ligando-se as moléculas PAMP e DAMP. Duas classes de receptores de PRRs iniciam e propagam as respostas inflamatórias na lesão de isquemia/reperfusão: “toll like receptors” (TLRs), especialmente TLR-4, e o receptor para glicação avançada de produtos finais (receptor advanced glycation end products) (RAGE). As DAMPs e PAMPs são agonistas dos receptores e a sinalização mediada por DAMPs endógenas ocorrem principalmente através do TLR 4 (SEKI; BRENNER, 2008; PARK et al., 2004).

O sistema imune inato provê uma primeira linha de defesa contra inflamação e infecção, estimula a maturação de células dendríticas e regula as citocinas (BARTON; MEDZHITOV, 2002). Os TLRs são considerados a pedra angular do sistema de imunidade natural (MEDZHITOV et al., 1997).

Na lesão de isquemia/reperfusão, a mitocôndria participa em vários processos fisiopatológicos. Existe uma falência da produção de ATP como consequência do rompimento da fosforilação causada por geração e dano das espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS). Distúrbios citosólicos iônicos (cálcio, sódio, hidrogênio) causam a distúrbios iônicos mitocondriais e vice-versa, com consequente dano na membrana plasmática e na membrana mitocondrial, incluindo a formação dos poros de transição na membrana mitocondrial (MPT) (ABU-AMARA et al., 2010).

ROS e RNS contribuem para lesão de vários tipos celulares encontradas no fígado, levando à apoptose e depuração de células necróticas. ROS causam dano oxidativo na

membrana lipídica (peroxidação lipídica), especialmente ácidos graxos poli-insaturados, que resulta em distúrbios na homeostase de ferro, tumefação celular e morte (JAESCHKE et al., 2003).

O dano contínuo não é limitado apenas à membrana plasmática, mas estendido para compartimento intracelular, envolvendo todas as organelas, incluindo mitocôndrias e o núcleo. Em adição, dentro da mitocôndria, ROS podem causar dano oxidativo para as complexas enzimas da cadeia respiratória, levando a falência da produção de ATP e liberação do citocromo para o cortisol, ativando a apoptose (MADESH et al., 2003; ZHAO et al., 2004).

Dentro do núcleo, o DNA pode ser danificado por oxidação, resultando em falência da transcrição e tradução proteica. Antiproteases podem também sustar o dano causado por ROS, levando a sua inativação, que permite ativação inapropriada de proteases que impõe o dano celular. ROS podem também ativar os fatores de transcrição redox sensitivos, chamados NFkB e AP-1 (SCHWABE et al., 2006; MATSUI et al., 2000). Entre suas funções, NFkB regula as citocinas pró-inflamatórias como o TNF-alfa (SANLIOGLU, 2001), e AP-1 promovendo apoptose do hepatócito através da liberação do citocromo C e ativação da caspase 3 (PERALTA et al., 2001). Uma diminuição na ativação do NFkB e uma subsequente redução do TNF-alfa mRNA tem sido envolvido no mecanismo de proteção a lesão de isquemia e reperfusão (DOGAN; ASLAN, 2011). A geração de ROS durante a isquemia/reperfusão pode também estimular produção adicional de ROS por mitocôndrias vizinhas.

#### **1.4 HSP ( *heat shock fator* – proteína do choque térmico)**

As células de Kupffer são importantes fontes de heme-oxigenase (HO), uma enzima limitante da conversão da heme para a biliverdina que leva a liberação de monóxido de carbono e ferro. Três isoformas de HO têm sido identificadas: HO-1, também conhecidas como proteínas do choque térmico (HSPs-32); HO-2 encontrado no cérebro e testículos e HO-3 (DOGAN; ASLAN, 2011). Heme oxigenase (HSP32) é um gene de resposta ao estresse que pode ser induzido por múltiplas agressões celulares, incluindo a lesão por isquemia (TAKETA et al., 1994; YAMAGUCHI et al., 1996) . HO-1 protege contra a lesão de isquemia/reperfusão em fígados esteatóticos de ratos (AMERSI et al., 1999). A função das HSPs é o dobramento correto das proteínas de estresse e prevenção de sua agregação (DOGAN; ASLAN, 2011). HSP 70, conhecida como proteínas do estresse, pode ser

importante marcador da viabilidade do fígado submetido a lesão da isquemia/reperfusão em roedores (SAKAI et al., 2003).

A indução de outras HSPs, por exemplo HSP 70, induzida por Nrf-2 (fator nuclear eritroide), aumenta a sobrevivência e protege contra a lesão de isquemia/reperfusão no fígado (KUME et al., 1996; SAKAI et al., 2003; DOGAN; ASLAN, 2011) e também previne a apoptose (SAKAI et al., 2003). Em lesão de isquemia renal, foi demonstrado que HSP72 é um marcador eficiente para detecção precoce e estratificação da lesão isquêmica renal em ratos (BARRERA-CHIMAL et al., 2011).

A indução de HSPs, conhecido como resposta ao estresse, é caracterizada por uma priorização e quase exclusiva produção de HSPs. Esse efeito pode proteger contra os insultos letais. Essa tolerância é pouco conhecida, mas envolve um mecanismo próprio dobrável, sendo conhecido como moléculas chaperonas, a qual a HSP é um membro. HSP parecem reparar proteínas desnaturadas ou danificadas ou promover sua degradação após lesão irreparável (MELIS et al., 2004; HOUDIJK et al., 1998). Elas são identificadas por seus pesos moleculares (ex. HSP72, HSP27, HSP70, HSP90). As isoformas induzíveis (ex. HSP 70, HSP 27) são as que oferecem proteção celular. Existem evidências claras que a glutamina pode aumentar HSP em estudos tanto “in vitro” como “in vivo” em laboratório utilizando infusões de glutamina na dose de 0,15 a 0,75g/kg (WISCHMEYER et al., 2003).

## **1.5 MELD ( *Model End-Stage Disease* )**

O MELD é um escore matemático que utiliza os valores de creatinina, INR (*International Normalized Ratio*) e bilirrubina para avaliar a gravidade do paciente com doença hepática terminal. O MELD tem sido também utilizado para alocar na fila os pacientes candidatos ao transplante hepático, beneficiando os pacientes com maior gravidade, que tem o maior valor deste escore. O escore MELD também é um dos parâmetros que reflete fatores de risco do receptor para o transplante hepático (DESCHERNES, 2013).

O escore Meld é calculado pela seguinte fórmula matemática:  $9,57 \times \text{creatinina mg/dl} + 3,78 \times \log. \text{bilirrubina} + 11,20 \times \log. \text{INR} + 6,42$ , arredondando-se o resultado para o próximo número inteiro. O valor máximo da creatinina vai até 4.

Desde maio de 2006, este é o critério utilizado no Brasil para alocação dos pacientes na fila dos transplantes, conforme Portaria nº 1.160 de 29 de maio de 2006 do Ministério da Saúde.

## 1.6 Estratégias para minimizar a lesão de isquemia/reperfusão hepática

Uma revisão da literatura de 144 estudos sobre este tema incluem estratégias cirúrgicas, como condicionamento isquêmico, incluindo vários marcadores como adenosina, óxido nítrico, HSPs e TNF alfa tem sido propostos na prevenção da isquemia e reperfusão. Estratégias farmacológicas utilizando enzimas antioxidantes SOD, catalase e substâncias antioxidantes como vitamina E, vitamina C, glutathione, N-acetilcisteína e ácido lipóico; inibição da xantina oxidase com allopurinol; eliminação da células de Kupffer com gadolínio também foram estudadas, mas apesar destas várias estratégias, poucas delas tem sido incorporadas na prática clínica (BAHGE; SPIEGEL, 2010).

Investigações focam na fonte de formação de ROS, especialmente através de xantina oxidase (JAESCHKE; WOOLBRIGHT, 2012; NORDSTROM et al., 1985). Sobre condições de estresse, a disfunção mitocondrial pode ocorrer e prejudicar o fluxo de elétrons e o aumento da formação de superóxido. Entretanto, para ativação mitocondrial no estresse no fígado, isto requer tempo de isquemia prolongado (JAESCHKE; MITCHELL, 1989). A mitocôndria contém Mn-superóxido dismutase (MnSOD), glutathione e glutathione peroxidase, tioredoxina-2, e glutaredoxina, e todos participam ativamente na desintoxicação de ROS na mitocôndria e ajudam a minimizar os danos (JAESCHKE, 2010). A mitocôndria pode ser um alvo principal durante a fase inicial da lesão de isquemia/reperfusão e também na resposta inflamatória tardia (JAESCHKE; WOOLBRIGHT, 2012).

A glutathione é um importante antioxidante intracelular encontrado em altas concentrações dentro dos hepatócitos. O principal efeito protetor da glutathione e sua importância na desintoxicação celular são enfatizados pelo modelo da oxidação da glutathione e depleção descoberta na superdosagem de acetaminofem. Glutathione pode reagir diretamente com oxidantes como peroxinitritos e peróxido de hidrogênio, mas também prover redução equivalente para manter o sistema antioxidante. (PATEL et al., 2014).

As concentrações de glutathione podem ser reabastecidas pela administração de N-acetilcisteína (NAC). A glutathione e NAC reduzem a produção de ROS do estresse oxidativo depois da isquemia e reperfusão (SCHAUER et al., 2004). Adicionalmente, ensaios clínicos de glutathione e NAC tem mostrado redução nos marcadores bioquímicos de lesão hepática (PATEL et al., 2014).

A formação de glutathione no plasma correlaciona-se com a ativação das células de Kupffer, sugerindo que esses macrófagos são importante fonte de estresse oxidante vascular

durante a fase precoce de reperfusão depois da isquemia quente (JAESCHKE et al., 1991; JAESCHKE et al., 1991) e isquemia fria (SHIBUYA et al., 1997). A ativação da célula de Kupffer ocorre pela DAMPs que são liberadas durante a reperfusão (TSUNG et al., 2005). Um ponto crítico é a inibição da capacidade das células de Kupffer de efetivamente atenuar a lesão de reperfusão (TSUNG et al., 2005). Apesar disto, as células de Kupffer não são um relevante alvo para intervenções terapêuticas por conta da função vital de defesa do hospedeiro na vascularização hepática (JAESCHKE; WOOLBRIGHT et al., 2012). Outro tipo celular capaz de gerar ROS são os neutrófilos. NADPH oxidase, especificamente NOX2, é a principal fonte de formação de superóxido pelos neutrófilos. O recrutamento dos neutrófilos no fígado começa durante as primeiras horas depois do início da reperfusão (JAESCHKE et al., 1991; JAESCHKE et al., 1991).

Uma das hipóteses mais populares de lesão mediada pelas ROS é a peroxidação lipídica (NEGRE-SALVAYRE WOOLBRIGHT, 2010). Este processo é iniciado por clivagem do peróxido de hidrogênio pelo ferro (reação de Fenton), resultando em formação do radical hidroxila, que inicia uma reação em cadeia radical levando a destruição dos ácidos graxos polinsaturados. Como esses tipos de reações são extremamente deletérios para as células, um efetivo sistema antioxidante é colocado em contrapartida a este processo, incluindo prevenção da formação da grande parte de espécies reativas, desintoxicação e reparo ao dano oxidativo (JAESCHKE, 2010). Portanto, algum aumento na peroxidação lipídica (LPO) pode sempre ser mensurado sobre a maioria das condições de lesão de isquemia e reperfusão (JAESCHKE; WOOLBRIGHT, 2012), entretanto LPO não é diretamente o mecanismo de lesão celular em humanos (GALLEY et al., 1995; SERRANO et al., 2000; RIVSBY et al., 1994). Em adição, produtos da LPO podem ter fatores quimiotáticos e participarem da amplificação da resposta inflamatória durante a reperfusão (JAESCHKE et al., 2011).

As mitocôndrias são organelas que tem papel central no mecanismo de morte celular, assim como ativadores de necrose, principalmente depois da abertura dos poros de transição da permeabilidade da membrana (MPT), que causa colapso do potencial de membrana mitocondrial com a cessação da síntese de ATP (LEMASTERS et al., 2002; BAHDE; SPIEGEL, 2010).

A apoptose é um mecanismo relevante de morte celular durante a lesão de isquemia/reperfusão (RUDIGER et al., 2003). Os mecanismos incluem a prolongada ativação da via c-jun-N-terminal quinase (JNK) (SINGH; CZAJA, 2001).

Diferentes substâncias endógenas foram estabelecidas como protetoras e em alguns casos, logo depois do início da isquemia. Em geral, todos estes componentes envolvidos na depuração de ROS são capazes de remover endógenos ameaçadores. Muitos destes genes são controlados pelo sistema fator nuclear eritróide 2 p45-relacionado (Nrf-2\_ -*Kelch* -like ECH proteína 1 associada (*Keap 1*) . (KLAASSEN et al.,2010 ; KENSLER et al.,2007). Muitos dos alvos do Nrf2 (exemplo, NADPH quinase oxidoreductase 1, heme oxigenase 1(HO-1), glutamato cisteína ligase (Gcl), hidrolase microssomal, glutationa S transferases e sulfiredoxina 1) podem ser potenciais alvos terapêuticos para combater a lesão de isquemia/reperfusão induzida por estresse oxidativo (KLAASSEN et al.,2010).

O tripeptídeo glutationa é um antioxidante altamente efetivo presente em altas concentrações em hepatócitos (YUAN; KAPLOWITZ, 2009). As concentrações de glutationa são regulados por Nrf2 dependente glutamato-cisteína ligase (LU, 2009). A administração de derivados da N-acetil-cisteína (NAC) aumenta as concentrações de glutationa celular, que pode ser usado na desintoxicação do peróxido de hidrogênio por glutationa peroxidase. Portanto, a glutationa pode desintoxicar as ROS presentes no espaço intracelular ou extracelular da peroxidase (JAESCHKE; WOOLBRIBGHY, 2012; PATEL et al., 2014), conseqüentemente pode desintoxicar ROS das células de Kupffer. (JAESCHKE et al., 1991; PATEL et al., 2014). A infusão intravenosa de glutationa tem sido mostrada eficaz em proteger contra o estresse oxidante vascular durante a reperfusão e depois da isquemia quente e fria (LIU et al., 1994; SCHAUER et al., 2004; BILZER et al., 2002). Conseqüentemente, a produção e manutenção da glutationa durante a isquemia/reperfusão, pode ser um objetivo atrativo (JAESCHKE; WOOLBRIGHT, 2012).

Um dos primeiros antioxidantes investigados foi a catalase exógena ou superóxido dismutase (SOD) como um pré-tratamento antes da lesão de isquemia (ATALLA et al., 1985). Conseqüentemente, indução ou manutenção das concentrações de SOD tem sido uma explicação comum para o mecanismo de proteção de numerosas substâncias (PERALTA et al., 2002). Entretanto, a administração de altas doses resulta em apenas proteção parcial (ATALLA et al., 1985), devido à baixa disponibilidade da enzima. Então, essa potencial terapia antioxidante usando SODs modificadas ou catalases, podem ser uma maneira de minimizar a lesão. A capacidade de SOD1, SOD2, SOD3 em expulsar ROS e prevenir a formação de espécies de radicais podem ser uma opção a terapêutica (JAESCHKE; WOOLBRIGH, 2012; PATEL et al., 2014).

Outro método tradicional de reduzir a isquemia/reperfusão é o pré-condicionamento isquêmico, expondo o fígado a breves períodos de isquemia (SINDRAM et al., 2002; CARINI

et al., 2001). Estudos mostram que os fígados esteatóticos são mais sensíveis a isquemia quando comparados a fígados não esteatóticos e que a isquemia intermitente minimiza este efeito em ratos Zucker (STEENKS et al., 2010). O pré-condicionamento isquêmico leva a redução da resposta inflamatória, assim como o estresse oxidativo (SINDRAM et al., 2002; CARINI et al., 2001; PERALTA et al., 2002). Embora o efeito protetor possa incluir uma melhoria das defesas antioxidantes, isto é claramente multifatorial (JASSEM et al., 2009).

Estudo prospectivo coreano recente avaliou o efeito da isquemia hepática intermitente durante hepatectomia do doador em transplante intervivo (IHIO), utilizando o lobo direito. Foram avaliados os níveis de transaminases, interleucina-6 (IL-6), IL-8, fator de necrose tumoral (TNF), fator de crescimento do hepatócito (HGF) e biopsias para medidas de malondialdeído (MDA) e caspase. Esse estudo conclui que, apesar dos valores das transaminases no 5º dia pós-operatório não terem diferidos entre os grupos, os doadores do lobo direito hepático, utilizando a técnica de IHIO, com uma taxa de peso enxerto/receptor (GRWT) > 0,9% e esteatose < 30% pode ser considerado um procedimento seguro (PARK et al., 2012).

Estudo da Cleveland Clinic, define lesão de isquemia/reperfusão hepática em 3 grupos; lesão leve AST < 500, lesão moderada AST > 500 e < 1000, lesão severa AST > 1000. Através da mensuração do fluxo portal e arterial hepático, concluiu que existe correlação entre esses fluxos e a severidade da lesão. (KELLY et al., 2011).

Os fagócitos incluindo as células de Kupffer e neutrófilos geram superóxidos através da NADPH oxidase (NOX-2) (JAESCHKE et al., 2003). Existem claras evidências da formação de ROS pelas células durante a isquemia/reperfusão hepática (JAESCHKE et al., 2003). Na verdade, inibidores da NOX-2 protegem da lesão inflamatória, incluindo a lesão de isquemia/reperfusão hepática (GUJRAL et al., 2003; LEHNERT et al., 2003; DORMAN et al., 2006; LIU et al., 2008). A xantina oxidase tem sido considerada um dos maiores produtores de ROS durante a isquemia/reperfusão devido à evidência do efeito protetor de seu inibidor, o alopurinol (NORDSTROM et al., 1985). Entretanto, o tempo requerido para o alopurinol ser efetivo, limita seu potencial clínico, devido ao tempo gasto para a notificação do paciente até o transplante, como consequência natural do processo de doação de órgãos (PATEL et al., 2014).

O óxido nítrico (NO) produzido em baixas níveis pelo óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) é associado com proteção contra isquemia/reperfusão via múltiplos possíveis mecanismos, incluindo a produção de adesão de leucócitos e limitação da produção de ROS pela mitocôndria. Além do mais, deficiência em derivados do eNOS tem sido

observada em numerosas desordens inflamatórias e na isquemia/reperfusão. Não está claramente definido, entretanto, como essa atividade da eNOS interfere no transplante hepático (LANG et al., 2007). Essa estratégia no transplante hepático ainda está sendo avaliada. Em acréscimo, estudo mostra que a administração de óxido nítrico pode ativar a sinalização de óxido nítrico (NO) em áreas de isquemia (LUNDBERG et al., 2009). Uma revisão mostra efeitos benéficos da geração de NO, via drogas eNOS indutores na solução de preservação fria, estratégias de pré-condicionamento, e vias exógenas alternativas com o enriquecimento no armazenamento do enxerto com soluções contendo doadores de NO (ABDENNEBI et al., 2001).

O armazenamento gelado e a reperfusão quente são passos inevitáveis no transplante e todos os enxertos são submetidos a algum grau de lesão de isquemia/reperfusão (ABDENNEBI et al., 2001). O condicionamento hipotérmico do órgão durante a isquemia fria é intencionalmente aplicado para reduzir a atividade metabólica das células e, conseqüentemente, preservar a função do enxerto antes do transplante.

A recuperação do fígado de ratos, após trinta minutos de isquemia, é possível, utilizando a insuflação de oxigênio sistêmico venoso (VSOP) suplementada por gás óxido nítrico durante o armazenamento gelado em enxertos hepáticos. Com esse tratamento, ocorreu aumento de NO e redução da liberação de malondialdeído (MDA) (SRINIVASAN et al., 2012).

A isquemia quente que começa no implante do enxerto tem um efeito adicional negativo na sua função e na sua sobrevivência. Seja qual for o tipo de agressão, o dano ao enxerto hepático que se inicia durante a fase isquêmica, é exacerbado depois da reperfusão com a reintrodução do oxigênio e elementos sanguíneos (ABDENNEBI et al., 2001).

No intuito de expandir o número de doadores, comparou-se o simples armazenamento gelado com a máquina de perfusão hipotérmica (HMP) usando 17 enxertos humanos descartados e avaliando-se AST, desidrogenase láctica (LDH), pH, pressão parcial de oxigênio e dióxido de carbono. Seis desses enxertos poderiam ser aproveitados para transplante, sugerindo que HMP preserva a morfologia dos fígados armazenados por períodos prolongados (MONBALIU et al., 2012).

Descoberta recente e inédita de uma solução de preservação super-resfriada, utilizando máquina de perfusão com oxigênio e uma combinação de substâncias químicas geladas, incluindo um composto chamado 3-O-methyl-D-glicose, que protege as células contra o congelamento, permitiu que enxertos de ratos fossem preservados a 6 graus negativos sem congelá-los. Este método garantiu a preservação destes enxertos por três dias em isquemia

fria, e posterior transplantes desses enxertos com pelo menos três meses de sobrevida (BERENDSEN et al., 2014).

Os inibidores de transição da permeabilidade da mitocôndria (MPT), também atingida pela ação dos ROS podem proteger da lesão isquêmica (LEMASTERS et al., 2002; THERUVATH et al., 2008;ZHONG et al.,2008). Edaravone é um exemplo de inibidor da MPT, que pode agir através da inibição mitocondrial da formação de canais MPT, sustentando níveis de ATP durante lesão de isquemia/reperfusão nos hepatócitos, indicando proteção mitocondrial (ABE et al., 2004).

O tratamento oral com alfa-tocoferol, um análogo da vitamina E também atenua a lesão de isquemia/reperfusão (RIGOTTI, 2007; PATEL et al., 2014). Na lesão de isquemia reperfusão hepática, pré-tratamento com alfa-tocoferol em ratos tem efeito protetor. (PATEL et al., 2014).

Apesar dos progressos no entendimento do mecanismo de afecções em modelos animais, o conhecimento da fisiopatologia na lesão de isquemia/reperfusão fria ou quente ainda é precário (JAESCHKE; WOOLBRIGHT, 2012). Adicionalmente, a necessidade por um melhor entendimento da lesão de isquemia/reperfusão é justificada pelo aumento significativo da lista de espera por um transplante de órgãos. Isto leva a uma estratégia mais focado no aumento do “*pool*” de doadores, com o aproveitamento de enxertos com critérios expandidos, como aqueles com esteatose ou provenientes de doadores de idade avançada (PATEL et al., 2014).

O impacto dos radicais livres é documentado na hepatite viral, estatohepatite alcoólica e não alcoólica, doenças autoimunes, colestase, carcinoma hepatocelular e lesões induzidas por drogas. Conseqüentemente, antioxidantes são propostos como componentes promissores para a prevenção e o tratamento do dano hepático. Terapia antioxidante é geralmente protetora para células e em modelos animais para a maioria das doenças hepáticas (BELLANTI et al., 2014).

## 1.7 Glutamina

A glutamina, um aminoácido não essencial, é considerado um nutriente condicionalmente essencial em estados de severas agressões ao organismo e em algumas enfermidades (ZHANG et al., 2013; WISCHMEYER et al., 2007). A glutamina tem se mostrado benéfica na prevenção da morbidade e mortalidade de pacientes críticos (ZHANG et al., 2013; WISCHMEYER et al., 2007). A glutamina protege contra a lesão de isquemia/reperfusão no intestino, coração e músculo esquelético por preservar a glutatona (GSH) contida nos tecidos em modelos animais (SOZEN et al., 2011; HARWARD et al., 1994; PREM et al., 1999). A glutamina é um precursor da síntese de ácidos nucleicos e glutatona. Ela é o principal combustível para a rápida proliferação e divisão celular de enterócitos e linfócitos. Ela pode manter o metabolismo das células da mucosa intestinal direta ou indiretamente, promover a hiperplasia de células epiteliais do íleo e cólon, mantendo a estrutura e função da mucosa intestinal do intestino delgado e reduzir o aumento da permeabilidade intestinal (SCHEPPACH et al., 1994).

A glutamina é o mais abundante aminoácido livre no organismo e a principal fonte provém do músculo esquelético de onde ele é liberado para a corrente sanguínea e transportado para vários tecidos. (ESPOSITO et al., 2011). Ela tem sido utilizada em muitas condições clínicas, como trauma ou queimadura, jejum prolongado e quimioterapia, para prevenir enterocolite (ELIA; LUNN, 1997). Esse aminoácido não essencial parece agir não apenas como um principal produto natural, mas também como marcador de ativação de linfócitos no sistema imune como substrato para a produção de glutatona (ROTH et al., 2002). Estudos em animais revelam que a glutamina reduz o risco de dano celular por endotoxemia ou isquemia (WISCHMEYER et al., 1997) e atenua a liberação de citocinas anti-inflamatórias, TNF-alfa e interleucina-6 (IL-6) em animais sépticos e melhora a sobrevivência. Glutamina induz a expressão de HSP70 em culturas de células animais (SINGLETON; WISCHMEYER, 2006), e em pacientes críticos (ZIEGLER et al., 2005).

Concentrações de glutamina encontram-se diminuídas durante o estresse catabólico e estão relacionadas à suscetibilidade a infecções. Glutamina tem efeitos na reação redox durante a proliferação dos linfócitos (MATÉS et al., 2002; CHANG et al., 1999). Por outro lado, a glutamina pode aumentar significativamente o potencial redox NAD e o nível de NADH em células sanguíneas falciformes (CHANG et al., 1999). Ela também é um inibidor da excessiva produção de radicais livres como óxido nítrico (NO) e superóxido conferindo efeito cardioprotetor durante lesão de isquemia/reperfusão (KHOGALI et al., 1998). Além

disto, glutamina não é apenas uma fonte de energia da mitocôndria, mas é também um precursor do neurotransmissor glutamato, que é utilizado na biossíntese do antioxidante celular glutatona. Desde que a glutamina é um precursor da glutatona, sua suplementação pode ser usado para manter níveis altos de glutatona, evitando o dano do estresse oxidativo (AMORES-SANCHEZ; MEDINA, 1999). Espécies reativas de oxigênio, como ânions superóxidos e peróxido de hidrogênio, funcionam como mensageiros intracelular ativando entre outros, a apoptose, enquanto a glutamina é um supressor da apoptose (MATÉS et al., 2002).

Os mecanismos da lesão envolvem a ativação do estresse oxidativo, consequente à hipóxia. Portanto, o enxerto hepático sofre os efeitos deletérios da liberação das espécies reativas de oxigênio, que não são adequadamente neutralizados.

Várias substâncias antioxidantes têm sido utilizadas para reduzir os efeitos do estresse oxidativo no organismo e sendo estendido para diminuir a lesão de isquemia/reperfusão. Os antioxidantes têm sido aplicados também, para os órgãos que serão transplantados. A glutatona é um dos potentes antioxidantes do organismo que antagoniza os efeitos do estresse oxidativo. A glutamina é precursora da glutatona e tem sido estudada em doses nutraceuticas para prevenir estes danos no organismo.

Os efeitos benéficos da glutamina estão sendo demonstrados em animais de laboratórios, inclusive em órgãos utilizados para o transplante como o pâncreas, pulmão, rim e fígado (ZHANG et al., 2013).

Nenhum estudo clínico, entretanto, analisou a glutamina em humanos submetidos ao transplante hepático.

Um evento crucial para o melhor aproveitamento dos órgãos para transplante é justamente reduzir as graves lesões do período de isquemia em que estes enxertos são submetidos, seguidos da reperfusão. A consequente lesão de isquemia/reperfusão no fígado ocasiona a disfunção deste enxerto, com reflexos na sobrevida deste órgão. A disfunção do enxerto, sendo uma das principais causas de retransplante, leva a um aumento da morbimortalidade pós-operatória.

Segundo o Registro Brasileiro de Transplante da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO /2014), o Ceará é o terceiro Estado em maior número de doações, com uma proporção de 23 doadores por milhão de habitantes. Infelizmente, este número ainda está muito aquém da necessidade dos pacientes que esperam na fila por órgãos para transplante. Estes pacientes padecem de doença hepática terminal e sofrem com suas terríveis repercussões, como hemorragia digestiva, ascite, desnutrição, insuficiência renal e

encefalopatia. Todas estas complicações impactam na qualidade de vida e na sobrevida desses pacientes, existindo ainda um elevado e inconcebível número de pacientes que falecem na fila, sem conseguirem ser transplantados.

Tendo em vista a baixa proporção de doadores em relação à demanda dos pacientes que necessitam do transplante hepático, são necessários estudos que visem aumentar a qualidade dos enxertos a serem transplantados. Dessa forma, tende-se a contribuir para um melhor aproveitamento de órgãos e, provavelmente, diminuição da morbidade e mortalidade pós-operatória.

## **2 OBJETIVOS**

### **Geral:**

Avaliar o efeito do pré-condicionamento com L-alanil-glutamina na lesão de isquemia/reperfusão no enxerto de pacientes submetidos ao transplante de fígado.

### **Específicos:**

Avaliar a função hepática dos pacientes submetidos ao transplante hepático após o pré-condicionamento com glutamina.

### 3 MÉTODO

#### 3.1 Desenho do estudo

Foram avaliados 33 pacientes submetidos ao transplante hepático no Serviço de Transplante Hepático do Hospital Universitário Walter Cantídeo (HUWC) da Universidade Federal do Ceará (UFC), no período de 22/05/13 a 17/12/13. Todos os procedimentos foram realizados pela mesma equipe de cirurgiões e anesthesiologistas. Os enxertos utilizados foram de doadores falecidos.

Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado e duplo cego. Os pacientes estudados foram distribuídos em dois grupos:

Grupo 1 (l-alanil-glutamina) - após celiotomia foi cateterizada a veia porta e administrado 80ml de solução contendo 50g de L-alanil glutamina. Esse procedimento ocorreu 40 minutos antes do início da isquemia fria.

Grupo 2 (controle) - após celiotomia foi cateterizado a veia porta e administrado 80ml de solução fisiológica, 40 minutos antes do início da isquemia fria .

Em ambos os grupos, foram utilizados frascos idênticos e de mesma coloração para administração da l-alanil-glutamina e para a solução de controle, para não ser possível a identificação visual de nenhuma das suas substâncias.

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da UFC, parecer 216.272, data da relatoria 11/03/2013 (Anexo B).

Os critérios de exclusão foram os doadores maiores que 70 anos e menores que 6 anos. Os doadores oriundos de outras cidades, os casos de retransplante, os casos de hepatite fulminante e os enxertos hepáticos com esteatose maior que 60% foram também excluídos.

O esquema de preservação utilizado foi idêntico em ambos os grupos. A solução de preservação utilizada em ambos os grupos foi Custodiol. Durante a cirurgia no doador, era infundido 2 litros pela aorta e 2 litros através da veia porta. Após a retirada do enxerto hepático, era infundido mais 500ml na veia porta, 400 ml na artéria hepática e 100 ml no colédoco.

Foram colhidas amostras de sangue na aorta do doador e dosados AST, ALT, INR, bilirrubina, para parâmetro inicial (S0) e foi realizada biópsia no segmento II do fígado, para parâmetro inicial. O fragmento hepático retirado para biópsia (BO) foi resfriado em nitrogênio líquido e posteriormente congelado em freezer a -70 graus.

Antes do início do transplante (S1), no início da isquemia quente (S2), no final do procedimento do transplante (S3) e no 1º (S4), 3º (S5), 7º (S6) e 30º dia pós-operatório (S7), foram colhidos no sangue periférico dos pacientes transplantados amostras para dosagem de AST, ALT, INR e bilirrubina total.

Foi realizada biópsia de enxerto hepático no início da isquemia quente (B1) e no final do procedimento (B2). Esse tecido era congelado em nitrogênio líquido, e posteriormente, mantido em freezer a -70º Celsius.

No tecido hepático biopsiado, foram dosados o malondialdeído (MDA), glutationa (GSH), superóxido dismutase (SOD), proteína do choque térmico (HSP70) e fator nuclear Kappa Beta (NFkB).

Foram analisados também os parâmetros: idade do receptor, idade do doador, sexo do receptor, tempo de isquemia fria (TIF) e tempo de isquemia quente (TIQ) nos dois grupos.

As dosagens dos parâmetros bioquímicos do sangue do doador e receptor foram realizadas no laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Walter Cantídeo (HUWC) da Universidade Federal do Ceará (UFC) e os parâmetros de biópsia hepática foram analisados no laboratório de neurociência e comportamento da UFC.

O grau de esteatose foi verificado, após a perfusão, pela avaliação macroscópica do enxerto hepático realizado pelo cirurgião captador. Este grau foi classificado em esteatose <30% e em esteatose entre 30% a 60%. Quando na avaliação da equipe de cirurgiões captadores, o enxerto apresentava esteatose maior que 60%, não era utilizado para transplante.

Foi analisado a sobrevida do enxerto hepático e a mortalidade operatória do paciente.

### **Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica foi avaliada através do kit QuantiChrom TBARS (BioAssay Systems). O preparo das amostras foi feito da seguinte forma: o homogenato tecidual (10% em tampão fosfato contendo inibidor de protease) foi sonicado por 20 seg. e, em seguida, 110 µL do homogenato e 220 µL de ácido tricloroacético 10% foram introduzidos em tubo de ensaio e mantidos no gelo por 15 min. Após a incubação, o material foi centrifugado a 14000 rpm por 15 minutos, o sobrenadante foi retirado e armazenado a - 80°C. No dia do ensaio foram adicionados 200 µL amostra e 200 µL de ácido tiobarbitúrico num tubo de ensaio seguido de incubação por 60 minutos a uma temperatura variável de 95 - 100°C. A solução então foi retirada e colocada para esfriar, após isso foi feita à leitura da absorbância no comprimento de 532nm. A curva padrão foi obtida mediante leitura de várias concentrações de malondialdeído (MDA) padrão e os resultados foram expressos em molaridade por mg de tecido.

### **Determinação da concentração da glutathiona reduzida (GSH)**

O método utilizado baseia-se na reação do reagente de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) - DTNB) com o tiol livre originando um dissulfeto misto mais ácido 2-nitro-5-tiobenzóico com pico de absorvância em 412 nm. A quantificação foi realizada através do kit QuantiChrom Glutathione Assay Kit (BioAssay Systems). O preparo das amostras foi feito da seguinte forma: o homogenato tecidual (10% em tampão fosfato contendo EDTA 1mM) foi sonicado por 20 seg., centrifugado a 10000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi retirado e armazenado a - 80°C. No dia do ensaio as amostras foram diluídas (5 vezes em água) e o protocolo seguiu as especificações do fabricante. A leitura da absorvância foi realizada no comprimento de 412nm, a curva padrão foi obtida mediante leitura de várias concentrações de GSH padrão e os resultados foram expressos em mol por mg de tecido.

### **Dosagem da atividade da Superóxido Dismutase (SOD)**

Neste ensaio o anion superóxido ( $O_2^-$ ), fornecido por reação catalisada pela enzima xantina oxidase, reage com WST-1 formando um composto com pico de absorvância em 440 nm. Na presença de SOD a reação com WST-1 é inibida. A quantificação foi realizada através do kit QuantiChrom Superoxide Dismutase Kit (BioAssay Systems). O preparo das amostras foi feito da seguinte forma: o homogenato tecidual (10% em tampão fosfato contendo EDTA 0,1mM e Triton X-100 0,5%) foi sonicado por 20 seg., centrifugado a 12000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi retirado e armazenado a - 80°C. No dia do ensaio as amostras foram diluídas (10 vezes no diluente fornecido pelo kit) e o protocolo seguiu as especificações do fabricante. A curva padrão foi obtida mediante leitura de várias concentrações de SOD padrão e os resultados foram expressos em unidades de enzima por mg de tecido.

### **Quantificação de HSP70 e NFkB**

As quantificações de HSP70 e NFkB hepáticos foram realizadas pelos kits de ELISA SEA873Hu e SEB824Hu, respectivamente, da Cloud-Clone Corp. O homogenato tecidual (10% em tampão fosfato) foi sonicado por 20 seg., centrifugado a 5000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi retirado e armazenado a - 80°C. No dia do ensaio as amostras foram diluídas (10 vezes no diluente fornecido pelo kit) e os protocolos seguiram as especificações do fabricante. Os resultados foram expressos em ng de HSP70 ou NFkB por mg de tecido.

### 3.2 Hepatectomia do doador

A retirada do enxerto hepático foi realizada pela mesma equipe de cirurgiões do Serviço de Transplante Hepático da UFC e seguindo as recomendações da ABTO para captação de múltiplos órgãos.

Primeiramente foi realizada uma incisão do apêndice xifoide à sínfise púbica no doador falecido. O enxerto hepático foi avaliado, quanto a sua textura, coloração e grau de esteatose hepática. Realizava-se a cateterização da veia porta, com sonda de Levine número 12, através da dissecação da veia mesentérica inferior (VMI) ou da veia mesentérica superior, no caso de haver dificuldade técnica na cateterização da VMI. Foi administrada através desta sonda 80 ml da solução de glutamina ou de solução salina, conforme a ordem aleatória deste estudo.

Após a heparinização do doador com 300 U/Kg de peso, a aorta distal foi cateterizada com sonda de Levine número 20, próximo a bifurcação das artérias ilíacas. Após a ligadura da aorta supra celíaca, foi iniciada a perfusão do órgão do seguinte modo: perfusão da aorta com 2 litros de solução de Custodiol a 4°C e perfusão de 2 litros de solução de Custodiol a 4°C pela veia porta (“*in situ*”) e mais 1 litro de solução Custodiol a 4°C depois de retirado o enxerto hepático, sendo 500ml na veia porta, 400 ml na artéria hepática e 100 ml do colédoco. A junção da veia cava – átrio direito foi seccionada na cavidade pericárdica para drenagem livre e a veia cava infra-renal ligada para evitar que o retorno venoso aquecesse os órgãos.

O início da perfusão do órgão coincide com o início da isquemia fria. O tempo de isquemia fria (TIF) é definido, então, como o tempo decorrido do início da perfusão gelada no doador até a retirada do órgão do acondicionamento gelado para ser transplantado no receptor.

### 3.3 Transplante do Receptor pela técnica de *Piggyback* .

O transplante hepático de todos os pacientes foi realizado segundo a técnica de “*piggyback*”, que consiste na retirada do enxerto hepático com preservação da veia cava do receptor. A técnica de *piggyback* tem a vantagem de evitar os efeitos danosos do clampeamento total da veia cava e suas repercussões. Todos os transplantes foram realizados pela mesma equipe de cirurgiões do Serviço de Transplante Hepático do Hospital Universitário Walter Cantídio da UFC (GARCIA et al., 2005).

O procedimento foi iniciado através de uma incisão subcostal bilateral com extensão mediana. Em seguida, as estruturas do pedículo hepático foram dissecadas com ligadura da

artéria hepática direita e esquerda, ducto colédoco e posteriormente a veia porta. O fluxo portal é mantido o maior tempo possível para evitar congestão esplâncnica. Realizou-se a ligadura das veias hepáticas e a hepatectomia total com preservação da veia cava.

O enxerto hepático é retirado do acondicionamento gelado e posicionado sobre o campo operatório, iniciando-se assim a isquemia quente. Foi realizado a anastomose da veia cava do enxerto com as três veias hepáticas do receptor. Em seguida, procedia-se a anastomose da veia porta do enxerto com a veia porta do receptor. Após o término desta anastomose, a veia cava infra-hepática do enxerto era ligada. Em seguida, era liberado o pinçamento da veia cava e veia porta, iniciando-se a reperfusão do órgão e encerrando a fase anepática.

O tempo de isquemia quente (TIQ) é iniciado quando o enxerto é posicionado no campo operatório, fora do acondicionamento gelado, e termina quando ocorre a reperfusão do fígado.

A reconstrução da artéria foi realizada com auxílio de lupas. A primeira opção era a anastomose da artéria celíaca do doador com a bifurcação das artérias gastroduodenal e hepática própria. Outras opções foram as anastomoses ao nível da bifurcação das artérias hepáticas, direita e esquerda. Após a perfusão arterial, colecistectomia e anastomose término-terminal do ducto colédoco, finalizando o transplante hepático.

### **3.4 Análise Estatística**

Para comparação entre os grupos foram utilizados os seguintes testes: qui-quadrado para avaliar sexo e grau de esteatose; teste t de Student para idade, INR, tempo de isquemia fria e tempo de isquemia quente; teste de Mann Whitney para AST, ALT, bilirrubina total e MELD. As análises de medidas repetidas foram realizadas utilizando o teste de Friedman seguido do teste de Dunn. Em todos os testes o critério de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . O programa de computador usado foi Graph Pad Instat® 5.0.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Características dos doadores

A idade média do doador no grupo controle foi de 40,8 ( DP  $\pm$ 15,6 EP $\pm$ 3,8), variando de 16 a 69 anos e no grupo com glutamina foi de 33,8 (DP $\pm$  20,5 EP $\pm$ 5.1 ), variando de 7 a 67 anos. Esta diferença não foi significativa ( $p= 0,28$ ).

Os enxertos hepáticos, tanto do grupo controle quanto do grupo glutamina, tiveram esteatose menor que 30% em 94% dos casos e em 6% dos casos esteatose entre 30% a 60%.

No grupo glutamina ocorreu um óbito por sepse grave e um paciente foi submetido a retransplante por não função primária do enxerto, evoluindo para óbito. Portanto, no grupo glutamina houve dois óbitos e uma não função do enxerto. No grupo controle, também houve dois óbitos, um por não função do enxerto e o outro por sepse. Neste grupo controle, ocorreu um retransplante por não função do enxerto. A sobrevida do enxerto e a mortalidade foram semelhantes nos dois grupos.

A média da AST (aspartato aminotransferase) no doador do grupo controle foi de 154,3 U/dl (DP $\pm$  218,1 EP  $\pm$ 56,3 ) e no doador do grupo glutamina foi de 147,1 (DP $\pm$ 212, 4 EP $\pm$ 54,3 ) . A ALT (alanina aminotransferase) no grupo controle do doador teve média de 136,9 (DP  $\pm$  182,5 EP $\pm$ 27,1) e no grupo glutamina do doador foi 76,73 ( DP $\pm$ 93,36 EP $\pm$ 27,1). Não houve diferença entre os dois grupos  $p = 0,6449$  e  $p = 0,4926$ , respectivamente.

O valor da bilirrubina do doador no grupo controle variou de 0,14 mg/ml a 1,47mg/ml, com média de 0,56mg/ml (DP  $\pm$  0,38 EP $\pm$ 0,10) e mediana de 0,45mg/ml. No grupo glutamina o valor variou de 0,2mg/ml a 3,82mg/ml com média de 0,91mg/ml (DP  $\pm$  0,94 mg/ml EP $\pm$ 0,25) e mediana de 0,66 mg/ml. Sem diferença entre os grupos ( $p = 0,3477$ ).

O valor do INR ( *International Normalized Ratio*) no doador do grupo controle teve média de 1,36 (DP  $\pm$  0,24 EP $\pm$ 0,06) e no grupo glutamina de 1,23 (DP $\pm$  0,08 EP $\pm$ 0,02) com  $p = 0,1643$ , mostrando semelhança estatística dos dois grupos.

Os dados referentes ao doador encontram-se sistematizados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Características dos doadores.

		<b>Controle</b>	<b>Glutamina</b>	<b>valor de p</b>
<b>N</b>		17	16	
<b>Idade</b>	média ± EPM	40,8± 3,8	33,8 ± 5,1	$p = 0,2807$
	min - max	16 - 69	7 - 67	
<b>Esteatose</b>		94% < 30	94% < 30	$p = 0,9647$
		6% 30-60	6% 30-60	
<b>AST (U/dL)</b>	média ± EPM	154,3 ± 56,3	147,1 ± 54,84	$p = 0,6449$
	mediana (min - max)	84 (13 - 885)	60 (21 - 660)	
<b>ALT (U/dL)</b>	média ± EPM	136,9 ± 47,1	76,73 ± 27,1	$p = 0,4926$
	mediana (min - max)	46 (11 - 591)	36 (15 - 318)	
<b>INR</b>	média ± EPM	1,36 ± 0,06	1,23 ± 0,02	$p = 0,1643$
<b>Bilirrubina total (mg/mL)</b>	média ± EPM.	0,56 ± 0,10	0,91 ± 0,25	$p = 0,3477$
	mediana (min - max)	0,45 (0,14 - 1,47)	0,66 (0,2 - 3,82)	

AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase ; INR: *international normalised ratio*; min: mínimo; max: máximo; EPM: erro padrão da média.

## 4.2 Características dos receptores

Nos pacientes submetidos ao transplante hepático (receptores) a média de idade foi semelhante nos dois grupos ( $p=0,2831$ ). No grupo controle a média de idade foi de 56,4 anos (DP±14,7 EP±3,6) e no grupo glutamina a média foi de 50,6 (DP ± 15,7 EP±3,9).

Quanto ao sexo do paciente transplantado também não houve diferença entre os grupos, sendo 41% do sexo feminino no grupo controle e 38% sexo feminino do grupo glutamina ( $p=0,8290$ ).

Não houve diferença estatística no escore MELD nos dois grupos ( $p=0,96$ ). A média no grupo controle foi de 21,1 (DP±1,9 EP±0,5) com mediana de 20 e no grupo glutamina a média foi de 20,4 (DP±2,7 EP±0,7) e mediana de 20.

A AST dos pacientes transplantados do grupo controle foi aferida média de 87,8 U/dl (DP± 80,02 EP±20,7) e no grupo glutamina a média de 136,4 U/dl (DP± 209,4 EP±54,1), mediana de 72 u/dl e 71U/dl, respectivamente e sem predominância estatística de nenhum grupo ( $p = 0,7051$ ).

A ALT dos receptores do grupo controle a média foi de 53,73 U/dl (DP± 45,61 EP±11,8) e mediana de 38 U/dl e no grupo glutamina a média foi de 103,6 U/dl (DP ± 143,4 EP±35,9) e mediana de 73 U/dl com  $p = 0,2199$ , não houve diferença entre os grupos.

O valor do INR dos receptores entre os dois grupos foi semelhante ( $p = 0,4096$ ). No grupo controle a média foi de 1,71 (DP ± 1,21 EP±0,17) e no grupo glutamina a média foi de 1,55 (DP ± 1,21 EP±0,09). Semelhança também foi verificada no nível de bilirrubina dos dois grupos ( $p = 0,9159$ ). A média no grupo controle foi de 4,43 mg/ml (DP ± 3,73 EP±0,09) e no grupo glutamina de 5,66 mg/ml (DP ± 7,32 EP±1,8) com mediana 3,61 mg/ml (0,43 - 12,87) e de 2,19mg/ml (1,22 - 27,66) respectivamente.

Os dados dos pacientes transplantados são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2** - Características dos receptores.

		Controle	Glutamina	valor de $p$
<b>N</b>		17	16	
<b>Sexo (% feminino)</b>		41	38	$p = 0,8290$
<b>Idade</b>	média ± EPM	56,4 ± 3,6	50,6 ± 3,9	$p = 0,2831$
	min - max	21 - 70	15 - 70	
<b>AST (U/dL)</b>	média ± EPM	87,8 ± 20,7	136,4 ± 54,1	$p = 0,7051$
	mediana (min - max)	72 (20 - 342)	71 (30 - 869)	
<b>ALT (U/dL)</b>	média ± EPM	53,7 ± 11,8	103,6 ± 35,9	$p = 0,2199$
	mediana (min - max)	38 (17 - 167)	73 (13 - 618)	
<b>Meld</b>	média ± EPM	21,1 ± 0,5	20,4 ± 0,7	$p = 0,6640$
	mediana (min - max)	20 (20 - 27)	20 (14 - 24)	
<b>INR</b>	média ± EPM	1,71 ± 0,17	1,55 ± 0,09	$p = 0,4096$
<b>Bilirrubina total (mg/mL)</b>	média ± EPM	4,4 ± 0,9	5,66 ± 1,8	$p = 0,9159$
	mediana (min - max)	3,6 (0,4 - 12,9)	2,2 (1,2 - 27,7)	

AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase INR: *international normalised ratio*;

MELD: Model for and-stage liver; min: mínimo; max: máximo; EPM: erro padrão da média.

O tempo de isquemia fria no grupo controle foi em média de 295,3 minutos (DP ± 63,16) e em média de 263,5 minutos (DP ± 99,23). No grupo glutamina, o tempo de isquemia quente foi em média de 27,75 minutos (DP± 4,61) e de 28,94 minutos (DP± 4,31). Quando comparado os dois grupos, não houve diferenças tanto na isquemia fria ( $p = 0,2889$ ) quanto na isquemia quente ( $p = 0,2831$ ), mostrado na Tabela 3.

**Tabela 3** - Tempo de isquemia.

	Controle	Glutamina	valor de p
<b>Tempo de isquemia fria (min)</b>	295,3 ± 63,16	263,5 ± 99,23	$p = 0,2889$
<b>Tempo de isquemia quente( min)</b>	27,75 ± 4,61	28,94 ± 4,31	$p = 0,2831$

Ocorreu um aumento de AST em ambos os grupos em S2, S3, S4, em relação a S1. (Tabela 4A).

Tabela 4A. Valores de AST dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).

Amostra	AST (U/dL)			
	Controle		Glutamina	
	N= 12	valor de p	N= 12	valor de p
S1	96 ± 25	$p > 0,05$	159 ± 66	$p > 0,05$
S2	1268 ± 271 a	<b>* <math>p &lt; 0,05</math></b>	2080 ± 493 b	<b>* <math>p &lt; 0,001</math></b>
S3	1555 ± 263 a	<b>* <math>p &lt; 0,001</math></b>	2542 ± 534 b	<b>* <math>p &lt; 0,0001</math></b>
S4	1875 ± 638 a	<b>* <math>p &lt; 0,05</math></b>	1729 ± 598 b	<b>* <math>p &lt; 0,01</math></b>
S5	909 ± 436	$p > 0,05$	779 ± 384	$p > 0,05$
S6	86 ± 21	$p > 0,05$	104 ± 23	$p > 0,05$
S7	39 ± 6	$p > 0,05$	65 ± 23	$p > 0,05$

AST: aspartato aminotransferase; S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO; S7: 30° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. a vs S1 controle, b vs S1 glutamina, testes de Friedman e de Dunn.

Em nenhum dos momentos, o grupo glutamina apresentou diferença em relação a AST, comparando-se ao grupo controle (Tabela 4 B).

Tabela 4B. Valores de AST comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.

Amostra	AST (U/dL)		valor de <i>p</i>
	Controle	Glutamina	
	N= 12	N= 12	
S1	96 ± 25	159 ± 66	<i>p</i> > 0,05
S2	1268 ± 271	2080 ± 493	<i>p</i> > 0,05
S3	1555 ± 263	2542 ± 534	<i>p</i> > 0,05
S4	1875 ± 638	1729 ± 598	<i>p</i> > 0,05
S5	909 ± 436	779 ± 384	<i>p</i> > 0,05
S6	86 ± 21	104 ± 23	<i>p</i> > 0,05
S7	39 ± 6	65 ± 23	<i>p</i> > 0,05

AST: aspartato aminotransferase. S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO; S7: 30° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn.

Ocorreu um aumento de ALT em ambos os grupos em S2, S3, S4, S5 em relação a S1. (Tabela 5A).

Tabela 5A. Valores de ALT dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).

Amostra	ALT (U/dL)			
	Controle		Glutamina	
	N= 10	valor de <i>p</i>	N= 14	valor de <i>p</i>
S1	63 ± 17	<i>p</i> > 0,05	115 ± 40	<i>p</i> > 0,05
S2	915 ± 158 a	<b>* <i>p</i> &lt; 0,001</b>	1319 ± 230 b	<b>* <i>p</i> &lt; 0,0001</b>
S3	1034 ± 139 a	<b>* <i>p</i> &lt; 0,0001</b>	1403 ± 235 b	<b>* <i>p</i> &lt; 0,0001</b>
S4	1369 ± 319 a	<b>* <i>p</i> &lt; 0,001</b>	1070 ± 206 b	<b>* <i>p</i> &lt; 0,001</b>
S5	1024 ± 179 a	<b>* <i>p</i> &lt; 0,01</b>	872 ± 186 b	<b>* <i>p</i> &lt; 0,01</b>
S6	280 ± 29	<i>p</i> > 0,05	262 ± 45	<i>p</i> > 0,05
S7	60,7 ± 8	<i>p</i> > 0,05	102 ± 26	<i>p</i> > 0,05

ALT: alanina aminotransferase. S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO; S7: 30° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn.

Em nenhum dos momentos o grupo glutamina apresentou diferença em relação a ALT, comparando-se ao grupo controle (Tabela 5B).

Tabela 5B. Valores de ALT comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.

ALT (U/dL)			
Amostra	Controle	Glutamina	valor de <i>p</i>
	N= 10	N= 14	
S1	63 ± 17	115 ± 40	<i>p</i> > 0,05
S2	915 ± 158	1319 ± 230	<i>p</i> > 0,05
S3	1034 ± 139	1403 ± 235	<i>p</i> > 0,05
S4	1369 ± 319	1070 ± 206	<i>p</i> > 0,05
S5	1024 ± 179	872 ± 186	<i>p</i> > 0,05
S6	280 ± 29	262 ± 45	<i>p</i> > 0,05
S7	60,7 ± 8	102 ± 26	<i>p</i> > 0,05

ALT: alanina aminotransferase; S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO; S7: 30° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn.

Houve aumento do INR no grupo controle em S3 e do INR em S2 e S3, do grupo glutamina, em relação a S1 (Tabela 6A).

Tabela 6A. Valores de INR dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).

INR				
Amostra	Controle		Glutamina	
	N= 13	valor de <i>p</i>	N= 12	valor de <i>p</i>
S1	1,61 ± 0,16	<i>p</i> > 0,05	1,48 ± 0,11	<i>p</i> > 0,05
S2	2,13 ± 0,15	<i>p</i> > 0,05	4,72 ± 1,13 b	* <i>p</i> < 0,01
S3	2,56 ± 0,27 a	* <i>p</i> < 0,01	2,77 ± 0,67 b	* <i>p</i> < 0,01
S4	2,30 ± 0,37	<i>p</i> > 0,05	2,69 ± 0,68	<i>p</i> > 0,05
S5	1,40 ± 0,09	<i>p</i> > 0,05	1,49 ± 0,26	<i>p</i> > 0,05
S6	1,20 ± 0,05	<i>p</i> > 0,05	1,17 ± 0,06	<i>p</i> > 0,05

INR: *international normalised ratio*. S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. a vs S1 controle, b vs S1 glutamina, testes de Friedman e de Dunn.

Em nenhum destes momentos, o grupo glutamina apresentou diferença em relação a INR comparando-se ao grupo controle. (Tabela 6B).

Tabela 6B. Valores de INR comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.

Amostra	INR		valor de <i>p</i>
	Controle N= 13	Glutamina N= 12	
S1	1,61 ± 0,16	1,48 ± 0,11	<i>p</i> > 0,05
S2	2,13 ± 0,15	4,72 ± 1,13	<i>p</i> > 0,05
S3	2,56 ± 0,27	2,77 ± 0,67	<i>p</i> > 0,05
S4	2,30 ± 0,37	2,69 ± 0,68	<i>p</i> > 0,05
S5	1,40 ± 0,09	1,49 ± 0,26	<i>p</i> > 0,05
S6	1,20 ± 0,05	1,17 ± 0,06	<i>p</i> > 0,05

INR: *international normalised ratio*. S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn .

Houve diminuição da bilirrubina em S7 em ambos os grupos em relação a S1. (tabela 7A).

Tabela 7A. Valores de bilirrubina total dos grupos controle e glutamina nos diferentes tempos comparando com S1 (antes do início do transplante).

Amostra	Bilirrubina total (mg/mL)			
	Controle N= 10		Glutamina N= 11	
		valor de <i>p</i>		valor de <i>p</i>
S1	4,89 ± 1,02	<i>p</i> > 0,05	3,61 ± 0,96	<i>p</i> > 0,05
S2	3,25 ± 0,35	<i>p</i> > 0,05	3,19 ± 0,54	<i>p</i> > 0,05
S3	3,25 ± 0,43	<i>p</i> > 0,05	3,79 ± 0,57	<i>p</i> > 0,05
S4	6,03 ± 2,54	<i>p</i> > 0,05	4,21 ± 0,90	<i>p</i> > 0,05
S5	5,93 ± 2,16	<i>p</i> > 0,05	3,76 ± 1,05	<i>p</i> > 0,05
S6	6,52 ± 1,92	<i>p</i> > 0,05	4,53 ± 1,80	<i>p</i> > 0,05
S7	1,61 ± 0,41 a	<b>* <i>p</i> &lt; 0,01</b>	1,32 ± 0,35 b	<b>* <i>p</i> &lt; 0,05</b>

S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO; S7: 30° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. a vs S1 controle, b vs S1 glutamina, testes de Friedman e de Dunn.

Em nenhum destes momentos, o grupo glutamina apresentou diferença em relação à bilirrubina comparando-se ao grupo controle. (Tabela 7B).

Tabela 7B. Valores de bilirrubina total comparando grupo controle versus grupo glutamina nos diferentes tempos.

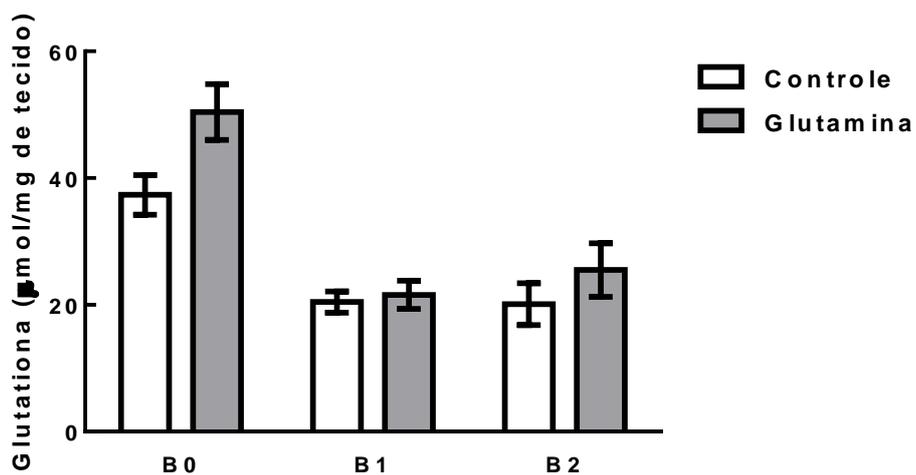
Amostra	Bilirrubina total (mg/mL)		valor de <i>p</i>
	Controle N= 10	Glutamina N= 11	
S1	4,89 ± 1,02	3,61 ± 0,96	<i>p</i> > 0,05
S2	3,25 ± 0,35	3,19 ± 0,54	<i>p</i> > 0,05
S3	3,25 ± 0,43	3,79 ± 0,57	<i>p</i> > 0,05
S4	6,03 ± 2,54	4,21 ± 0,90	<i>p</i> > 0,05
S5	5,93 ± 2,16	3,76 ± 1,05	<i>p</i> > 0,05
S6	6,52 ± 1,92	4,53 ± 1,80	<i>p</i> > 0,05
S7	1,61 ± 0,41	1,32 ± 0,35	<i>p</i> > 0,05

S1: antes do início do transplante; S2: início da isquemia quente; S3: final do transplante; S4: primeiro dia pós-operatório (PO); S5: 3° dia PO; S6: 7° dia PO; S7: 30° dia PO. Os valores representam a média ± EPM. Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn.

A média da concentração tissular de glutatona no enxerto hepático em B0, B1 e B2 no grupo controle foi de 37,35 micromol/ml (DP±11,21 EP ± 3,11); 20,47 micromol/ml (DP±6,056 EP±1,68); 20,13 micromol/ml (DP±11,88 EP± 3,295), respectivamente. No grupo glutamina foi de 50,41micromol/ml (DP±15,85 EP ± 4,395); 21,58 micromol/ml (DP±8,014 EP±2,223); 25,50 micromol/ml (DP±15,17 EP±4,208), respectivamente.

Não houve diferença na concentração tissular de glutatona no enxerto hepático em B0, B1, B2, comparando os dois grupos (Figura 6A).

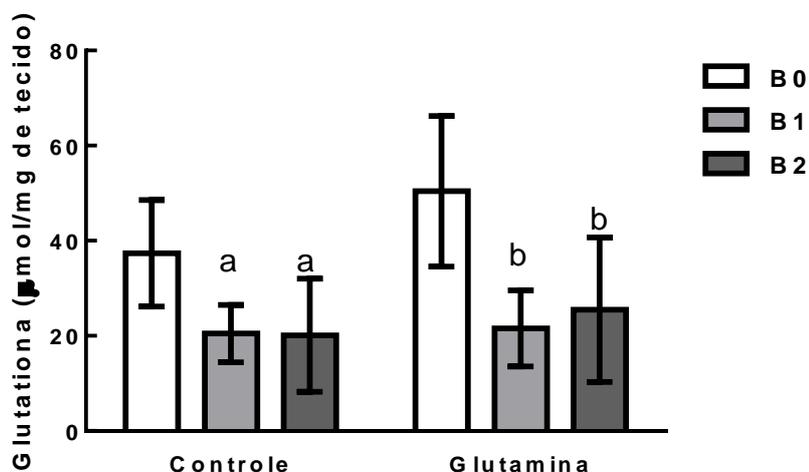
**Figura 6A** – Concentração tissular de glutatona em B0, B1, B2, comparando os grupos controle e glutamina



Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N = 13 (controle) N= 13 (glutamina). Testes de Kruskal-Wallis e Dunn. ,  $p < 0,05$ . B0:biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2:biópsia final do transplante.

No grupo controle ocorreu uma diminuição da concentração tissular de glutathiona no enxerto hepático em B1 comparando-se com B0 ( $p < 0,001$ ), e em B2 comparando-se com B0 ( $p < 0,01$ ). No grupo glutamina ocorreu também diminuição da concentração de glutathiona em B1 comparando-se com B0 ( $p < 0,01$ ), e em B2 comparando-se com B0 ( $p < 0,001$ ) (Figura 6B).

**Figura 6B** – Concentração tissular de glutathiona no enxerto hepático em B0, B1, B2 nos grupos controle e glutamina versus B0.

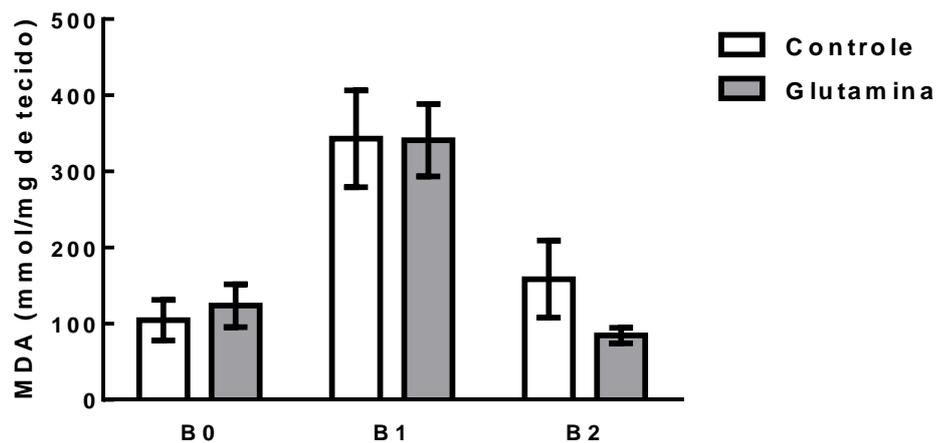


Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N=13 (controle) N=13 (glutamina). Controle, a, B1 vs B0 ( $p < 0,001$ ); a, B2 vs B0 ( $p < 0,01$ ). Glutamina, b, B1 vs B0 ( $p < 0,01$ ); b, B2 vs B0 ( $p < 0,001$ ), testes de Friedman e de Dunn. . B0:biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2:biópsia final do transplante.

A média da concentração tissular de MDA no enxerto hepático, no grupo controle, foi a seguinte: B0: 104 micromol/ml (DP $\pm$ 95,99 EP $\pm$ 26,92); B1: 342,0 micromol/ml (DP $\pm$ 229,4 EP $\pm$ 63,63); B2: 158,7 micromol/ml (DP $\pm$ 182,9 EP $\pm$ 50,72). No grupo glutamina, a média foi a seguinte: B0: 123,8 micromol/ml (DP $\pm$ 101,1 EP $\pm$ 28,03); B1:340,9 micromol/ml (DP $\pm$ 171,4 EP $\pm$ 47,53); B2:84,62 micromol/ml (DP $\pm$ 36,91 EP $\pm$ 10,24) .

As concentrações de MDA no enxerto hepático são semelhantes comparando-se os dois grupos, controle e glutamina, em B0, B1 e B2 (Figura 7A).

**Figura 7A** – Concentração tissular de MDA no enxerto hepático comparando os dois grupos, controle e glutamina.

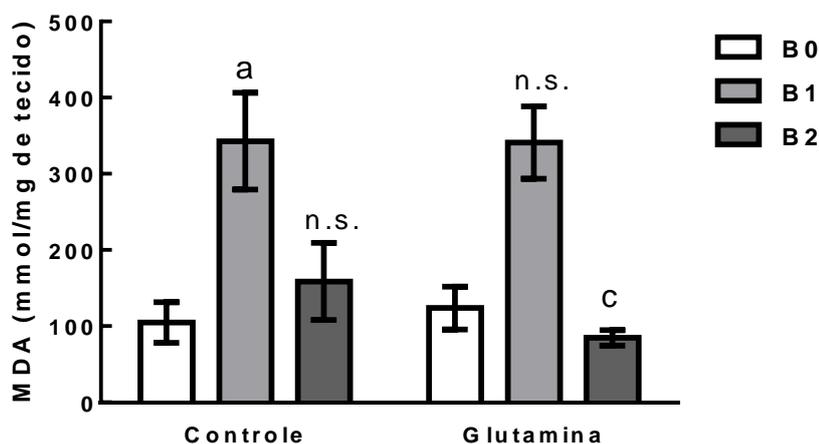


Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N=13 (controle) N=13 (glutamina). Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn,  $p < 0,05$ . B0:biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2:biópsia final do transplante.

No grupo controle, em B1 ocorre um aumento da concentração do MDA no enxerto hepático versus B0 ( $p < 0,01$ ), e em B2 não houve diminuição versus B0 (Figura 7B).

No grupo glutamina, não houve aumento da concentração do MDA no enxerto hepático em B1 versus B0 e em B2, houve uma diminuição de MDA, em relação a B0 ( $p < 0,001$ ) (Figura 7B).

**Figura 7B** – Concentração tissular de MDA no enxerto hepático nos grupos (controle e glutamina) versus B0

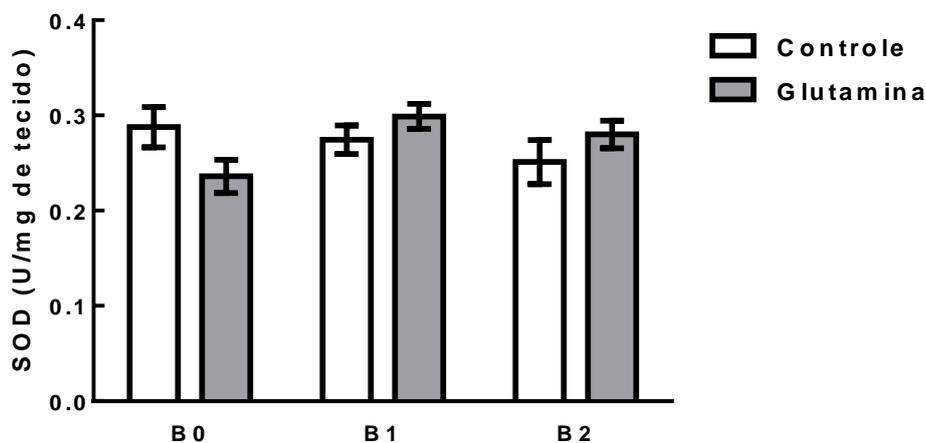


Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N=13 (controle) N=13 (glutamina). Controle, a, B1 vs B0 ( $p < 0,01$ ). Glutamina, c, B2 vs B0 ( $p < 0,001$ ), testes de Friedman e Dunn. n.s.= não significativo ( $p > 0,05$ ). B0: biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2: biópsia final do transplante.

A média da concentração tissular de SOD no enxerto hepático do grupo controle em B0, B1, B2 foi 0,24 unidades/miligramma (U/mg) (DP $\pm$ 0,01 EP $\pm$ 0,004); 0,2780 U/l (DP $\pm$ 0,057 EP $\pm$ 0,0255); 0,3000 (DP $\pm$ 0,412 EP $\pm$ 0,018), respectivamente. A média da SOD no tecido hepático do grupo glutamina, em B0, B1, B2 foi de 0,24 U/mg (DP $\pm$ 0,061 EP $\pm$ 0,023); 0,2929 U/mg (DP $\pm$ 0,411 EP  $\pm$  0,015); 0,2871 U/mg (DP $\pm$ 6,225 EP $\pm$ 0,059); respectivamente.

A concentração tissular de SOD no enxerto hepático foram semelhantes em B0, B1 e B2 nos grupos controle e glutamina (Figura 8).

**Figura 8** – Concentração tissular de SOD no enxerto hepático nos grupos controle e glutamina

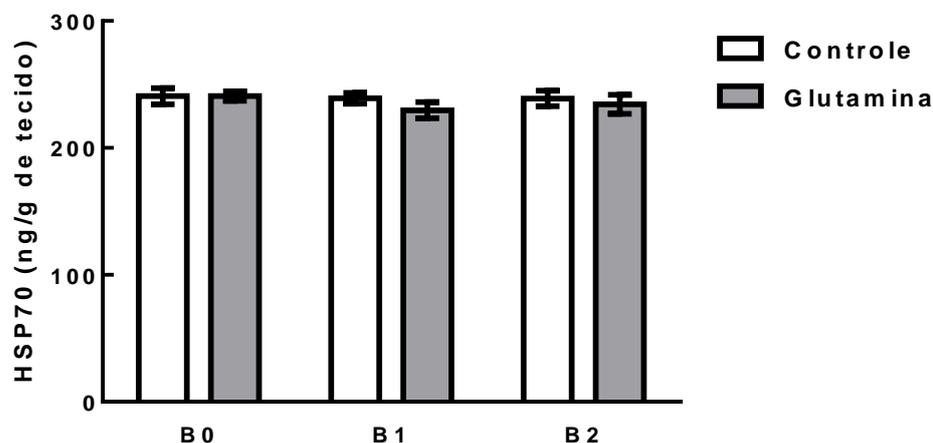


Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N=5 (controle) N=7 (glutamina),  $p < 0,05$ . teste ANOVA. B0:biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2:biópsia final do transplante.

A média da concentração tissular da HSP no enxerto hepático, no grupo controle em B0, foi 240,9 nanograma/grama (ng/g) (DP $\pm$ 21,94 EP  $\pm$  5,865); em B1 foi 238,8 ng/g (DP $\pm$ 14,87 EP $\pm$  3,975); em B2 foi 226,8 ng/g (DP $\pm$ 51,87 EP $\pm$  13,860). No grupo glutamina, esta média em B0 foi 240,9 ng/g (DP 14,46 EP $\pm$  3,734); em B1 foi 229,7 ng/g (DP $\pm$ 24,37 EP $\pm$  6,292) e em B2 234,3 ng/g (DP $\pm$ 29,08 EP $\pm$  7,509).

A concentração tissular de HSP 70 no enxerto hepático foi semelhante nos dois grupos em B0, B1, B2 (Figura 9).

**Figura 9** - Nível de HSP 70 nos grupos Controle e Glutamina

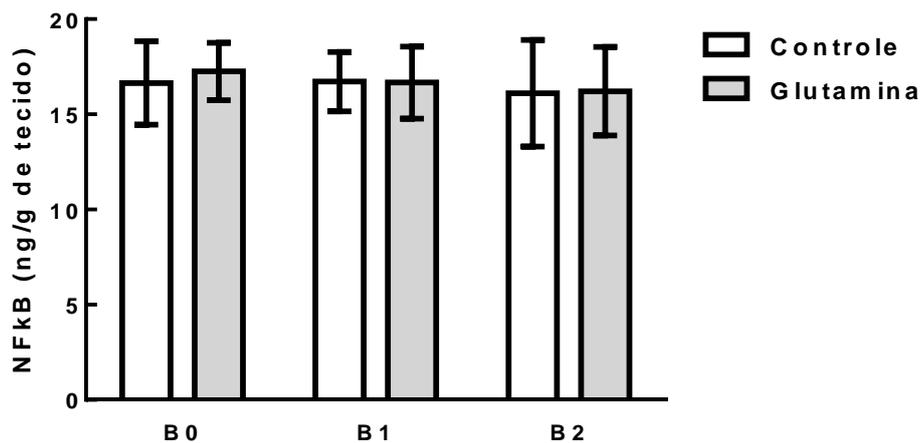


Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N=14 (controle) N=15 (glutamina),  $p < 0,05$ . Testes de Friedman e Dunn. B0: biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2: biópsia final do transplante.

Quanto a concentração tissular de NFkB no enxerto hepático no grupo controle, a média expressa em nanogramas/grama de tecido foi em B0: 16,52 (DP $\pm$ 2,141 EP $\pm$ 0,595); em B1: 16,70 (DP $\pm$ 1,488 EP $\pm$ 0,412); em B2: 15,17 (DP $\pm$ 4,317 EP $\pm$ 1,197). No grupo glutamina, a média em B0: 17,21 (DP $\pm$ 1,462 EP $\pm$ 0,390); em B1: 16,51 (DP $\pm$ 1,909 EP $\pm$ 0,510); em B2: 15,54 (DP $\pm$ 3,387 EP $\pm$ 0,905).

A concentração tissular de NFkB no enxerto hepático foi semelhante nos três momentos, nos dois grupos (Figura 10).

**Figura 10** – Concentração tissular de NFkB no enxerto hepático nos grupos Controle e Glutamina



Os valores representam a média  $\pm$  EPM. N=13 (controle) N=14 (glutamina),  $p < 0,05$ . Testes de Friedman e Dunn. B0: biópsia início da captação de múltiplos órgãos, B1: biópsia início da isquemia quente, B2: biópsia final do transplante.

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo é prospectivo, randomizado e duplo cego. Os dois grupos se mostraram semelhantes nas variáveis analisadas, como a idade do doador, idade do receptor, tempo de isquemia fria, tempo de isquemia quente, solução de preservação utilizada e até mesmo variações técnicas. Dessa forma, não houve interferências dos parâmetros pesquisados na análise dos dados.

A dose de 50 gramas de L-alanil-glutamina, utilizada no presente estudo, foi baseado no trabalho de Alves et al. (2010) que descreveu resultados promissores em minimizar a lesão de isquemia/reperfusão dos membros inferiores de pacientes submetidos a revascularização. Supõe-se que esta dose pode ser aplicável no enxerto hepático, independente do peso do doador.

As transaminases hepáticas são utilizadas para avaliar a gravidade da lesão hepática pós-lesão de isquemia/reperfusão (CHU et al., 2013). Ocorre aumento, em maior ou menor grau, após a I/R, a depender de uma série de fatores, como por exemplo, a esteatose hepática, aumento do tempo de isquemia quente e do tempo de isquemia fria, conforme artigo de revisão de 1314 artigos realizado por Chu et al.(2013). Recentes estudos mostram que o diagnóstico de disfunção do enxerto pode ser conferido até o 7º dia pós-operatório. (MARING, 2005). Nesse presente estudo, foram dosadas as transaminases, bilirrubinas e INR no transoperatório, no 1º PO, no 5º PO, no 7º PO e no 30º PO, conferindo assim mais fielmente o diagnóstico de disfunção do enxerto hepático.

Conforme já descrito por Tsai et al. (2014) demonstrando os efeitos da isquemia/reperfusão do fígado, nesse presente estudo as transaminases no grupo controle e no grupo da glutamina foram semelhantes, observando-se uma elevação no início da isquemia quente (ou seja, logo após o período de isquemia fria) com uma tendência a elevação nos pós-operatório precoce e a normalização dos valores no pós-operatório tardio. Isto reflete o efeito da lesão de isquemia/reperfusão inicial, causando uma disfunção do enxerto transitória em ambos os grupos. A glutamina, entretanto, não exerceu efeito minimizador destes efeitos, em nenhum dos momentos, nesse presente estudo.

Ikegami et al. (2012), propôs um novo conceito para disfunção de enxerto hepático após transplante intervivos caracterizado por hiperbilirrubinemia prolongada. Valores de bilirrubina acima de 20 mg/dl por sete dias pós-operatório consecutivos correlaciona-se com disfunção primária do enxerto (DPE) e aumento da mortalidade precoce. Mostrou também

que nenhum fator isolado como o INR, quantidade de ascite e nível de amônia influenciou a mortalidade. Os pacientes com DPE apresentaram  $\text{INR} > 2$  e coagulopatia.

Os valores de bilirrubina nesse estudo aumentaram nos dois grupos, na fase inicial e se normalizaram ao longo do tempo decorrido, como é esperado após o período de isquemia hepática, conforme também mostrado por Ikegami et al. (2012). A glutamina não influenciou os valores de bilirrubina nos dois grupos.

O valor do INR foi semelhante nos dois grupos. Portanto, a glutamina não teve influencia nos resultados.

Os dados dos parâmetros bioquímicos de função hepática que foram semelhantes, refletem a sobrevida do enxerto e a mortalidade operatória, que foi a mesma nos dois grupos.

Sozen et al. (2011) avaliando 30 fígados de ratos submetidos a isquemia/reperfusão com um grupo tratado com glutamina (0,75/Kg), e avaliando enzimas hepáticas (AST, ALT), desidrogenase láctica, capacidade total oxidante (TAC), catalase (CAT), status total oxidativo, index estresse oxidativo (OSI), oxidativo estresse total (TOS) e mieloperoxidase (MPO) medidos no tecido hepático, demonstraram que as transaminases, TOS, OSI, e MPO foram menores no grupo tratado com glutamina, ressaltando o efeito protetor desse aminoácido no fígado.

Na literatura pesquisada, esse estudo é o primeiro realizado com transplante hepático em humanos. No presente experimento, a glutamina não reduziu os níveis séricos das transaminases hepáticas, os valores de bilirrubina e do INR. A função hepática no pós-operatório inicial e até o 30º PO quando comparados os dois grupos, não foi influenciada pela administração de glutamina. As razões para isto precisam ser melhor estudadas em ensaios clínicos futuros. O presente estudo evidencia resultados diferentes dos estudos realizados em animais por Sozen et al. (2011) e por Stangl et al. (2011) que mostraram melhorar as provas laboratoriais de função hepática (ALT, AST, bilirrubina e INR) após a infusão de glutamina.

Ainda não existem estudos em transplante hepático humano relacionado com a glutamina para que possamos entender mais adequadamente este fenômeno. Maring (2005) refere que diferentes fatores podem influenciar a disfunção do enxerto e que esses mecanismos são pouco entendidos. Sugere-se, então, que em pacientes candidatos ao transplante hepático, existem fatores dos receptores que desempenham um importante papel no desenvolvimento da função do enxerto pós-operatória, como a função renal prévia, diagnóstico e estágio da doença hepática, condições intra-operatórias, tempo de isquemia fria e perda sanguínea. No doador, os efeitos da morte cerebral, tempo de UTI e sódio sérico são fatores que exercem influências deletérias para o enxerto.

Diferente dos experimentos em animais e em laboratório, um estudo clínico apresenta diversos fatores não controlados, como condições sobrepostas ao receptor, até mesmo no intra-operatório, como as citados por Maring (2005), que poderia também interferir no efeito benéfico da glutamina.

Segundo Maring (2005), está claro que a lesão de isquemia/reperfusão desempenha um papel chave na função pós-operatória do enxerto, e futuras intervenções podem ser necessárias para serem implementadas no transplante hepático em humanos.

A lesão de I/R no transplante hepático é associada ao aumento da morbi-mortalidade do paciente transplantado. Nesses pacientes, as concentrações de malondialdeído, TNF-alfa, IL-1b e IL-6 estão aumentados consideravelmente. Os valores pré-operatórios elevados de bilirrubina total, AST, ALT, escore MELD, INR e a perda sanguínea estão relacionados com a gravidade dos receptores. Nessas situações, as concentrações de MDA estão mais elevadas e os enxertos sofrem ainda mais com a isquemia/reperfusão (TSAI et al., 2014).

Lin et al. (2014), estudando fígados de ratos esteatóticos, não alcoólicos, evidenciou os efeitos da glutamina na histomorfologia do fígado, no estresse oxidativo e na expressão do fator nuclear kappa Beta (NFkB). Foi administrado 1 grama/kg/dia por via oral de glutamina em grupos de 6 ratos, e aferidos os níveis de glutathione, TNF alfa e a expressão do NFkB. No grupo não tratado com glutamina, as concentrações de NFkB, TNF e MDA foram mais altas e as concentrações de glutathione menores, comprovando um efeito protetor da glutamina nesses fígados. Esse fato é atribuído a redução do estresse oxidativo, inibição do NFkB e melhora da esteatose hepática, podendo-se acreditar em um efeito protetor da glutamina no fígado esteatótico não alcoólico.

Nesse presente estudo, apesar das evidências contrárias de Lin et al. (2014) e Sozen et al. (2011) em laboratório, a administração de glutamina antes da perfusão do enxerto não influenciou no processo de inflamação indicado pela semelhança dos valores do NFkB nos dois grupos. Talvez a influência da glutamina possa ocorrer em outras vias da inflamação que não a NFkB ou por outros fatores variáveis próprios de um ensaio clínico. Outra observação também feita por Lin et al. (2014), é que a glutamina parece ter efeito protetor no fígado esteatótico. No presente estudo, quase todos os enxertos não tinham esteatose, podendo-se especular que talvez seja um dos fatores pelo qual o NFkB não foi influenciado pela glutamina.

As concentrações de NFkB no enxerto mantiveram-se estáveis antes da isquemia, após a isquemia fria e início da isquemia quente e se manteve assim ao final do transplante. Portanto, a lesão de I/R nesse estudo não alterou as concentrações de NFkB do enxerto

hepático. Diferente do relato de Peralta et al. (2001), que mostrou que as ROS decorrente da lesão de I/R podem ativar a NFkB. Entretanto, nos dois grupos a concentração de NFkB não se modificou. Pode-se sugerir que os fatores que levam a provocar o dano de ROS consequente a lesão de isquemia/reperfusão, não foram suficientes para ativar o NFkB no enxerto hepático humano.

Patel et al. (2014), recentemente, descreveram que importantes vias desempenham papel relevante no estresse pós isquêmico que é causado pela restauração do fluxo sanguíneo e pela formação de oxidantes. Esses autores destacam que terapias antioxidantes como o pré-condicionamento isquêmico, glutathione, alfa tocoferol, allopurinol, SOD e óxido nítrico exógeno podem minimizar estes efeitos.

Schuster et al. (2009), em experimento com quatro grupos de 8 fígados de ratos, submetidos a 45 minutos de I/R, a administração de alanil-glutamina 2mM associado a vitamina E (tocoferol), em diferentes doses, teve efeito protetor para o tecido hepático, demonstrado pela mensuração de aminoácidos, ALT, AST e LDH. Foram avaliados os parâmetros produção de óxido nítrico (NO), vitamina A, TNF alfa e vitamina E. No tecido hepático, foram dosados MDA, SOD, glutathione. Quando a l-alanil glutamina foi administrada isolada não houve elevação das concentrações de glutathione, entretanto quando administrada com vitamina E houve aumento das concentrações de glutathione. Houve também uma diminuição da concentração de MDA com esta combinação. A concentração de SOD foi similar nos grupos (SCHUSTER et al., 2009).

Assim como no trabalho de Schuster et al. (2009), a SOD, nesse presente estudo também não sofreu impacto com a administração de glutamina, se mantendo sem alteração nos dois grupos. A glutamina não aumentou as concentrações de SOD nos pacientes transplantados. Por outro lado, Xu et al. (2014) demonstraram o efeito protetor da glutamina em intestino de ratos submetidos a lesão de isquemia/reperfusão. É razoável sugerir que a glutamina possa ter maior efeito se associada a outros antioxidantes (SCHUSTER et al., 2009).

As concentrações de glutathione, nesse trabalho, estavam depletados em ambos os grupos, após o enxerto ser submetido a isquemia e posteriormente a reperfusão. Esse efeito ocorre provavelmente pelo próprio mecanismo da lesão de I/R com consequente danos do estresse oxidativo descrito em artigo de revisão de Eltzhig e Carmeliet (2011). Entretanto, o presente estudo difere dos dados de Xu et al. (2014), pois quando se compara o grupo controle com o grupo glutamina, não houve aumento nas concentrações de glutathione.

A glutamina tem sido conhecida como indutora da expressão HO-1, conferindo então cito-proteção contra estresse e agressões, em fígados de camundongos (ZHANG et al., 2013). No estudo de Zhang et al. (2013), foram avaliados o T-BARS, a expressão de HO-1 e proteína quimiotáxica dos monócitos (MCP) e as dosagens das enzimas hepáticas, concluindo que a glutamina protege o fígado de rato da lesão de I/R. Além disso, a glutamina tem sido utilizada para melhorar os efeitos da isquemia/reperfusão em modelos experimentais intestinais e cardíacos (UMEDA et al., 2009; WISCHMEYER et al., 2003). O mecanismo de indução HO-1 pela glutamina, provavelmente envolve a ativação das HSPs (MORRINSON et al., 2006).

Hwang et al. (2013) observou que o pré-condicionamento com uma simples dose de glutamina em rins de camundongo, aumentou as concentrações de HSP. Essa ação também foi demonstrado por Stang et al. (2011) em fígados de ratos submetidos à lesão de isquemia com a diminuição dos valores de AST e ALT.

Esposito et al. (2011), em experimento em ratos observou que a glutamina na dose de 1,5mg/kg, administrado por via peritoneal, 15 minutos antes da reperfusão, reduz significativamente iNOX, NFkB e malonodialdeído, com conseqüente redução da peroxidação lipídica e constatou também a redução da infiltração de polifomonucleares. Observou também, uma diminuição da ciclooxigenase-2 (COX-2), prevenção do aumento da expressão AT-1 e também das evidências histológicas associadas ao dano da isquemia e reperfusão.

Efeito protetor da glutamina foi demonstrado por XU et al (2014), em intestino de 30 ratos submetidos à hipóxia hipobárica, administrada por sonda oral na dose de 5,0g/kg. A suplementação de glutamina aumentou as concentrações de SOD e diminuiu MDA e interleucina 6 (IL-6) sérica, TLR4, MyD88 e aumentou a concentração de ocludina, uma proteína de efeito protetor contra danos celulares. Concluindo, o tratamento com glutamina protegeu a lesão intestinal na hipóxia e esses efeitos podem estar relacionados a via de sinalização TLR4/Myd88/NFkB.

No presente estudo, foi realizado o pré-condicionamento com glutamina, mas conflitando com os dados recentes de Hwang et al. (2013), não houve ativação da HSP, que é considerado fator protetor para o enxerto hepático. Um possível mecanismo para este fato é que a HSP 70 não foi ativado no enxerto hepático humano submetido a essa lesão de isquemia/reperfusão. O HSP também não sofreu impacto com o tempo de isquemia fria e nem com a reperfusão. Por esse trabalho ser um ensaio clínico pioneiro, podem existir outras variáveis relacionadas com as características do doador e receptor, e até mesmo, com

complicações do próprio procedimento cirúrgico, que, talvez, possam ter interferido nesses resultados.

O pré-condicionamento com glutamina nesse estudo foi feito 40 minutos antes do início da isquemia fria. Mondello et al. (2010) , em modelo animal, mostrou que glutamina administrada 15 minutos antes da reperfusão na dose de 1,5mg/kg endovenoso, pode ser útil na prevenção da lesão de I/R no intestino de ratos. A glutamina atenuou a infiltração de neutrófilos no íleo, a formação de citocinas pró-inflamatórias, a expressão de moléculas de adesão, ICAM-1 e P-selectina, a degradação IKB-alfa e translocação nuclear do NFkB e a formação de nitrotirosina. Além disto, modula a via de ativação da apoptose, reduzindo a morte celular.

Pires et al. (2011), administraram glutamina 30 minutos antes da lesão de isquemia/reperfusão cerebral em 36 esquilos da Mongólia. Nesse estudo da Universidade Federal do Ceará, o pré-condicionamento com l-alani-glutamina aumentou as concentrações de glutathiona cerebral, a degeneração nuclear (picnose) e morte celular (neurônios vermelhos). Não houve, entretanto, diminuição das concentrações de T-BARS.

Araújo Junior et al. (2011), em outro estudo na UFC , infundiu glutamina (0,75mg/kg) no peritônio de ratos, duas horas antes da isquemia/reperfusão. Uma diminuição dos valores de AST e da expressão da caspase foi observada. Estas evidências sugerem que o pré-condicionamento com L-alanil glutamina, tem efeito protetor no fígado.

Poderia ser especulado que a administração de glutamina em um período maior antes da isquemia, influenciaria os resultados desse presente estudo. Entretanto, a glutamina foi injetada em “bolus”, diretamente na veia porta, colaborando para uma absorção rápida da glutamina pelo fígado. Esse método difere de Mondello et al. (2010) e Pires et al.(2011) que administraram a glutamina por via intravenosa periférica e de Xu et al. (2014), que utilizou a via peritoneal.

Alves et al. (2010), em outro experimento da UFC, administrou 750ml de solução a 20% contendo 13.46 g de L-alanil-glutamina/100ml adicionado a 250ml de solução salina (50g do dipeptídeo - dose nutracéutica) três horas antes da revascularização de membros inferiores isquêmicos de 32 pacientes. Houve diminuição das concentrações de TBARS, LDH, lactato, glicose e aumento das concentrações de glutathiona no grupo tratado com o dipeptídeo.

Jang et al. (2008), em estudo experimental em células das ilhotas pancreáticas de ratos mostrou que a glutamina induz a expressão de glutathiona, e de HSP70, além de atenuar o dano isquêmico nessas células. Peng et al. (2010), em pulmão de ratos submetidos a isquemia/

reperfusão, a glutamina (20mM) foi administrada antes e depois da isquemia, ocasionando uma diminuição de TNF-alfa, de malondialdeído, citocinas e da atividade do NFkB além da atenuação do estresse oxidativo.

Avila et al. (2005), em um estudo com humanos, utilizou a glutamina para reduzir o estresse oxidativo. Esse estudo avaliou células de ilhotas de Langerhans de pâncreas perfundidos na captação de múltiplos órgãos, mas rejeitados para transplante. Doze doadores foram usados em dois grupos randomizados de 6 (n=6). As ilhotas foram dissolvidas em solução contendo concentração final de 5 mM L-alanil glutamina. Nesse grupo observou-se concentração de glutathione mais elevado, redução da peroxidação lipídica, mensurado pela concentração de MDA, e menos células em apoptose.

Tsai et al. (2014) estudaram prospectivamente 14 pacientes submetidos a transplante hepático e mensurou as concentrações de MDA, citocinas, TNF alfa, interleucinas 1Beta (IL-1B) e IL-6 em diferentes momentos antes da reperfusão e de três a trinta minutos depois da reperfusão. Esses níveis aumentaram consideravelmente com a lesão de isquemia/reperfusão.

O presente estudo mostrou que a glutamina protege o enxerto hepático da peroxidação lipídica, pois as concentrações de MDA permaneceram inalterados após a isquemia fria, quando segundo Tsai et al. (2014), essas concentrações deveriam aumentar pelo efeito da isquemia/reperfusão, e mais ainda no final do transplante. Nesse estudo, no grupo glutamina, após a reperfusão, ocorreu uma diminuição da concentração de MDA no final do transplante. Evidencia-se, assim, um potencial efeito benéfico da administração da glutamina como pré-condicionamento protetor do estresse oxidativo e, conseqüentemente, da lesão de isquemia/reperfusão. Este fenômeno não ocorreu no grupo controle.

Houve também diminuição das concentrações de MDA nos experimentos em humanos realizados por Avila et al. (2005), em ilhotas pancreáticas e também constatado por Alves et al. (2010) em membros inferiores submetidos a lesão de isquemia/reperfusão, concordando com os achados desse estudo. Semelhante também com estudo recente de Zang et al (2013) e Xu et al. (2014) em modelos animais.

Ressalta-se, entretanto, que esse presente trabalho foi realizado em transplante hepático humano e as amostras foram colhidas em intervalos de tempo diferentes. Destaca-se ainda a avaliação de 33 pacientes, pois devido às dificuldades de estudos clínicos, geralmente as amostras são menores. Tsai et al.(2014) estudaram apenas 14 pacientes transplantados. Avila et al.(2005), avaliaram 6 pâncreas humanos. Até mesmo, em estudos em animais, o tamanho das amostras é reduzido. Shuster et al. (2009) avaliaram grupos de 6 ratos e Lin et al

(2014) avaliou grupo de 6 ratos. Esses dados conferem uma maior robustez aos possíveis efeitos da l-alanil glutamina, nesse presente estudo.

Esse estudo randomizado em pacientes submetidos ao transplante hepático é mais uma tentativa no entendimento da lesão de isquemia/reperfusão. A complexidade de fatores bioquímicos e metabólicos envolvidos neste mecanismo, torna-se um grande desafio às pesquisas clínicas futuras. As inúmeras vias de ativação já conhecidas, iniciam uma cascata de reações bioquímicas, envolvendo diversas proteínas e diferentes receptores. Isto torna mais desafiadora ainda esta tarefa. A aplicação destes conhecimentos no transplante de órgãos é de importância sublime, pois evidências apontam que a disfunção do enxerto está diretamente envolvida neste mecanismo com impacto na sobrevida do enxerto e do paciente.

No transplante hepático, esta complexidade está reforçada por fatores dos doadores e dos graves pacientes hepatopatas, que interferem, provavelmente, nas vias inflamatórias envolvidas.

A glutamina mostrou ter efeitos benéficos no transplante hepático e abre novos horizontes para importantes linhas de pesquisa. Devido à inexistência de publicações semelhantes em humanos, acredita-se que, talvez, esse presente estudo possa ser utilizado como modelo para validar outras hipóteses que possam auxiliar na proteção do enxerto contra a lesão de I/R. Novas perspectivas incluem a associação de outros agentes antioxidantes no pré-condicionamento, um reajuste na dose de glutamina e avaliação de quais tipos de enxerto hepático (esteatótico ou não) seriam mais responsivos. Outra linha de pesquisa seria avaliar os possíveis efeitos benéficos do tratamento com glutamina no pré e pós-operatório do transplante de fígado.

Não foi abordada nesse estudo, a ativação nuclear das proteínas sinalizadoras, pois foi aferida apenas medidas de quantificação. Talvez, exista uma expressão nuclear da NFkB e HSP diferente nos grupos estudados. Outras proteínas importantes neste processo, como o HIF, os receptores TLR e os inibidores da permeabilidade da membrana mitocondrial, e a eNOX, por exemplo, seriam também alvo de futuros estudos. Outra perspectiva, seria avaliar microscopicamente, no tecido hepático, a proporção de células em apoptose, como também a aglutinação dos polimorfonucleares.

Esse modelo, possivelmente, pode estimular mais pesquisas clínicas que ajudem a prevenir e a tratar as complexas lesões de I/R dos transplantes de órgãos, com consequente benefício para os pacientes.

## 6 CONCLUSÃO

O pré-condicionamento com l-alanil glutamina reduz a peroxidação lipídica causada pela lesão de isquemia/reperfusão no enxerto dos pacientes submetidos ao transplante hepático, utilizando como variável a concentração de MDA.

A l-alanil glutamina não altera a função hepática no enxerto dos pacientes submetidos ao transplante hepático, nos parâmetros de transaminases, INR e bilirrubina.

## REFERÊNCIAS

- ABDENNBI, H.B.; ZAQUAL, M.A.; ROSELL-CATAFAU, J. How to protect liver graft with nitric oxide. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 24, p. 2879-2889, 2011.
- ABE, T.; UNNO, M.; TAKEUCHI, H. et al. A new free radical scavenger, edaravone, ameliorates oxidative liver damage due to ischemia–reperfusion in vitro and in vivo. **J.Gastrointest. Surg.**, v.8, p.604-15, 2004.
- ABU-AMARA, M.; YANG, S. Y.; TAPURIA, N.; FULLER, B.; DAVIDSON, B.; SEIFALIAN, A. Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks – a review. **Liver Transplantation**, v.16, p. 1016-1032, 2010.
- ALVES, W.F.; AGUIAR, E.E.; GUIMARÃES, S.B.; SILVA FILHO, A.R.; PINHEIRO, P.M.A.; SOARES, G.S.D.; VASCONCELOS, P.R.L. L-Alanyl-glutamine preoperative infusion in patients with critical limb ischemia subjected to distal revascularization reduces tissue damage and protects from oxidative stress. **Annals of Vascular Surgery**, v, 24, n.4, p. 461-467, 2010.
- AMERSI, F.; BUELOW, R.; KATO, H. et al. Upregulation of heme oxygenase protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest.*, v. 104, p. 1631-9, 1999.
- AMORES-SANCHEZ, M.I.; MEDINA, M.A. Glutamine, as a precursor of glutathione, and oxidative stress. **Mol Genet Metab.**, v.67, p. 100-105, 1999.
- ARAÚJO JUNIOR, R.J.C.; SILVA JUNIOR, R.G.; VASCONCELOS, M.P.P.; GUIMARÃES, S.B.; VASCONCELOS, P.R.L.; GARCIA, J. H. P. Pré-condicionamento com L-alanil-glutamina reduz a lesão de isquemia-reperfusão no fígado de ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.26, supl. 1, 2011.
- ARUMUGAM, T.V.; SHIELS, I.A.; WOODRUFF, T.M.; GRANGER, D.N.; TAYLOR, S.M. The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. **Shock**, v. 21, p. 401-409, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS. **Registro Brasileiro de Transplantes**, 2014. Disponível em: <  
<http://abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2012/RBT-dimensionamento2012.pdf>. Acesso em: ago. 2014.
- ATALLA, S. L.; TOLEDO-PEREYRA, L.H.; MACKENZIE, G.H. et al. Influence of oxygen-derived free radical scavengers on ischemic livers. **Transplantation**, v.40, p. 584-90, 1985.
- AVILA, J. ; BARBARO, B.; GANGEMI, A.; ROMAGNOLI, T.; KUECHLE, J.; HANSEN, M.; SHAPIRO, J.; TESTA, G.; SANKARY, H.; BENEDETT, E.; LAKEY, J.; OBERHOLZER, J. Intra-ductal glutamine administration reduces oxidative injury during human pancreatic islet isolation. **American Journal of Transplantation**, v.5, p. 2830-2837, 2005.

BAGNALL, J.; LEEDALE, J.; TAYLOR, S.; SPILLER, D.G.; WHITE, M.R.H.; SHARKEY, K.J.; BEARON, R.N.; SEE, V. Tight control of hypoxia inducible factor (HIF)-alpha transient dynamics is essential for cell survival in hypoxia. **JBC the journal of biological chemistry**, 6 jan. 2014.

BAHDE, R.; SPIEGEL, H.U. Hepatic ischaemia-reperfusion injury from bench to bedside. **British Journal of Surgery**, v. 97, p. 1461-1475, 2010.

BALZAN, S.; BELGHITI, J.; FARGES, O.; OGATA, S.; SAUVANET, A.; DELEFOSSE, D. *et al.* The "50-50 criteria" on postoperative day 5: an accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy. **Ann Surg**, v.242, p. 824-828, 2005.

BARRERA-CHIMAL, J.; P´REZ-VILLALUA, R.; CORTÉS-GONZÁLEZ, C.; OJEDA-CERVANTES, M.; GAMBA, G.; MORALES-BUENROSTRO, L. E.; BOBADILLA, N. A. Hsp72 is na early and sensitive biomarker to detect acurte kidney injury. **EMBO Mol Med.**, v. 3, p. 5-20, 2011.

BARTON, G.M.; MEDZHITOV, R. Control of adaptive immune responses by toll-like receptors. **Curr Opin Immunol**, v.14, p.380-383, 2002.

BEHRENDTS, M.; HIROSE, R.; PARK, Y.H.; TAN, V.; DANG, K.; XU, F. *et al.* Remote renal injury following partial hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. **J Gastrointest Surg**, v. 12, p. 490-495, 2008.

BELLANTI, F.; SASTRE, J.; SERVIDDIO, G. Reactive oxygen species (ROS) and liver disease therapy. **Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants**, p. 1809-1838, 2014.

BERENDSEN, T.A.; BRUINSMA, B.G.; PUTS, C.F.; SAEIDI, N.; USTA, O.B.; UYGUN, B.E.; IZAMIS, M.; TONER, M.; YARMUSH, M.; UYGUN, K. Supercooling enables long-term transplantation survival following 4 days of liver preservation. **Nature Medicine**, 2014.

BERNUAU, J.; RUEFF, B.; BENHAMOU, J.P. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. **Semin Liver Dis.**, v. 6, p.97-106, 1986.

BILZER, M.; BARON, A.; SCHAUER, R. *et al.* Glutathione treatment protects the rat liver against injury after warm ischemia and Kupffer cell activation. **Digestion.**, v.6, p.49-57, 2002.

BILZER, M.; ROGGEL, F.; GERBES, A.L. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. **Liver Int**, v.26, p.1175-1186, 2006.

BROCK, R.W.; NIE, R.G.; HARRIS, K.A.; POTTER, R.F. Kupffer cell-initiated remote hepatic injury following bilateral hindlimb ischemia is complement dependent. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 280, p. G279-G284, 2001.

BROGAL, R.H.; CURBISHLEY, S.M.; WESTON, C.J.; ADAMS, D.H.; AFFORD, S.C. Reactive oxygen species mediate human hepatocyte injury during hypoxia/reoxygenation. **Liver Transplantation**, v.16, p. 1303-1313, 2010.

BURTON, J.R.; ROSEN, H.R. Diagnosis and management of allograft failure. **Clin Liver Dis.**, v.10, p.407-435, 2006.

CABAN, A.; OCZKOWICZ, G.; BDEL-SAMAD, O.; CIERPKA, L. Influence of Kupffer cells on the early phase of liver reperfusion. **Transplant Proc**, v.34, p. 694-697, 2002.

CALDWELL, C.C.; TSCHOEP, J.; LENTSCH, A.B. Lymphocyte function during hepatic ischemia/reperfusion injury. **J Leukoc Biol**, v. 82, p.457-464, 2007.

CARINI, R.; DE CESARIS, M. G.; SPLENDORE, R. et al. Signal pathway involved in the development of hypoxic preconditioning in rat hepatocytes. **Hepatology**, v. 33, p. 131-139, 2001.

CASH, T.P.; PAN, Y.; SIMON, M.C. reactive oxugen species and cellular oxygen sensing. **Free Radic Biol Med.**, v.43, p. 1219-25, 2007.

CHANG, W.K.; YANG, K.D.; SHAIIO, M.F. lymphocyte proliferation modulated by glutamine: involved in the endogenous redox reaction. **Clin Exp Immunol.**, v.117, 482-488, 1999.

CHEN, L.W.; EGAN, L.; LI, Z.W.; GRETEN, F.R.; KAGNOFF, M.F.; KARIN, M. The two faces of IKK and NF-kappaB inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion. **Nat Med**, v.9, p.575-581, 2003

CHU, M.J.J.; HICKEY, A.J.R.; PHILIPS, A. R.J.; BARTLETT, A.S.J.R. The impact of hepatic steatosis on hepatic ischemia-reperfusion injury in experimental studies: a systematic review. **Biomed Research International**, v. 2013.

CLAVIEN, P.A. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. **Hepatology**, v.28, p.281-285, 1998.

CLAVIEN, P.A.; CAMARGO JR, C.A.; CROXFORD, R.; LANGER, B.; LEVY, G.A.; GREIG, P.D. Definition and classification of negative outcomes in solid organ transplantation. **Application in liver transplantation. Ann Surg.**, v.220, p.109-120, 1994.

CLAVIEN, P.A.; HARVEY, P.R.; STRASBERG, S.M. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. **Transplantation**, v.53: 957-978, 1992.

COELHO, M.P.V.; AFONSO, R.C.; HIDALGO, R.; FELGA, G.; ALMEIDA, M.D.; DELLA-GUARDIA, B.; REZENDE, M.B.; MEIRA FILHO, S.P.; FERRAZ NETO, B.H. Results of retransplantation for primary nonfunction in a single center. **Transplantation Proceedings**, v. 43, n.1, p. 174-176, feb. 2011.

COOKE, M.S.; EVANS, M.D.; DIZDAROGLU, M.; LUNEC, J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. **FASEB J.**, v. 17, p. 1195-1214, 2003.

COSTA, R.A.P.; ROMAGNA, C.D.; PERREIRA, J.I.; SOUZA-PINTO, N.C. The role of mitochondrial DNA damage in the cytotoxicity of reactive oxygen species. **J. Bioenerg Biomembr.**, v.43, p. 25-29, 2011.

DESCHENES, M. Early allograft dysfunction: causes, recognition , and management. **Liver Transplantation**, v. 19, p. s6-s8, 2013.

DESCHENES, M.; BELLE, S.H.; KROM, R.A.; ZETTERMAN, R.K.; LAKE, J.R. Early allograft dysfunction after liver transplantation: a definition and predictors of outcome. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. **Liver Transplantation Database. Transplantation**, v.66, p. 302-310, 1998.

DOGAN, S.; ASLAN, M. Hepatic ischemia-reperfusion injury and therapeutic strategies to alleviate cellular damage. **Hepatology research**, v.41, p.103-117, 2011.

DORMAN, R.B.; WUNDER, C.; SABA, H. et al. NAD(P)H oxidase contributes to the progression of remote hepatic parenchymal injury and endothelial dysfunction, but not microvascular perfusion deficits. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v. 290, p. G1025-1032, 2006.

ELIA, M.;LUNN, P.G. The use of glutamine in the treatment of gastrointestinal disorders in man. **Nutrition**, v. 13, p. 743-747, 1997.

ELTZSCHING, H.K.; CARMELIET, P. Hypoxia and inflammation. **The New England Journal of Medicine**, v.364, p. 656-65, feb. 2011.

ESPOSITO, E.; MONDELLO, S.; DI PAOLA, R.;MAZZON, E.; ITALIANO, D.; PATERNITI, I.; MONDELLO, P.; ALIOSI, C.; CUZZOCREA, S. Glutamine contributes to ameliorate inflammation after renal ischemia/reperfusion injury in rats. **Naunyn-Schmied Arch Pharmacol**, v. 383, p. 493-508, 2011.

FERNÁNDEZ-CHECA, J.C. ; GARCÍA-RUIZ, C.; COLELL, A.; MORALES, A.; MARÍ, M.; MIRANDA, M.; ARDITE, E. Oxidative stress: role of mitochondria and protection by glutathione. **Biofactors**, v.8, p. 7–11, 1998.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v.408, p. 239–247, 2000.

FONDEVILA, C.; SHEN, X.D.; TSUCHIHASHI, S.; UCHIDA, Y.; FREITAS, M.C.; KE, B. et al. The membrane attack complex (C5b-9) in liver cold ischemia and reperfusion injury. **Liver Transpl**, v.14, p. 1133-1141, 2008.

FORBES, J.M.; COUGHLAN, M.T.; COOPER , M.E. .Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. **Diabetes**, v.57, p. 1446–1454, 2008.

GALLEY, H.F.; RICHARDSON, N.; HOWDLE, P.D. et al. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation during liver transplantation. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 89, p.329–332, 1995.

GARCIA, J. H.; VASCONCELOS, J. B.; BRASIL, I. R.; COSTA, P. E.; VIEIRA, R. P.; MORAES, M. O. Transplante de fígado: resultados iniciais. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 32, p. 100-103, 2005.

GONZALEZ, F.X.; RIMOLA, A.; GRANDE, L.; ANTOLIN, M.; GARCIA-VALDECASAS, J.C.; FUSTER, J. *et al.* Predictive factors of early postoperative graft function in human liver transplantation. **Hepatology**, v.20: 565-573, 1994.

GROCOTT, M.P.W. ; MARTIN, D.S.;LEVETT, D.Z.H.; MCMORROW, R.; WINDSOR, J.; MONTGONERY, H.E. Arterial blood gases and oxygen content in climbers on mount Everest. **N Engl J Med.**, v. 360, p. 140-9, 2009.

GU, Z.; MAKAMURA, T.; LIPTON, S.A. Redox reactions induced by nitrosative stress mediate protein misfolding and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. **Mol Neurobiol.**, v.41, p. 55-72, 2010.

GUJRAL, J.S.; HINSON, J.A.; FARHOOD, A. *et al.* NADPH oxidase-derived oxidant stress is critical for neutrophil-induced cytotoxicity during endotoxemia. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.**, v.287, p. G243–G252, 2004.

GURUSAMY, K.S.; SHETH, H.; KUMAR, Y.; SHARMA, D.; DAVIDSON, B.R. Methods of vascular occlusion for elective liver resections. **Cochrane Database Syst Rev**, v.1, 2009.

HACKETT, P.H.; ROACH, R.C. High-altitude illness. **N. Engl J med**, v.345, p.107-14, 2001.

HANSCHEN, M.; ZAHLER, S.; KROMBACH, F.; KHANDOGA, A. Reciprocal activation between CD4+ T cells and Kupffer cells during hepatic ischemia-reperfusion. **Transplantation** , v. 86, p.710-718, 2008.

HARTMANN, G.; TSCHOP, M.; FISCHER, R. *et al.* High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. **Cytokine**, v. 12, p. 246-52, 2000.

HARWARD, T.R.; COE, D.; SOUBA, W.W.; KLINGMAN, N.; SEEGER, J.M. Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. **J Surg Res.**, v.56, p. 351-355, 1994.

HEYLAND, D.K.; DHALIWAL, R.; DAY, A.G.; MUSCEDERE, J.; DROVER, J.; SUCHNER, U.; COOK, D. Reducing deaths due to oxidative stress(the redox study): rationale and study design for a randomized trial of glutamine and antioxidant supplementation in critically-ill patients. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.65, p.250-263, 2006.

HOUDIJK, A.P.; RIJNSBURGER, E.R.; JANSEN, J.; WESDORP, R.I.; WEISS, J.K.; MCCAMISH, M.A. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. **Lancet**, v. 352, p. 772-776, 1998.

HOWELL, J.; GOW, P.; ANGUS, P. VISVANATHAN, K. Role of toll-like receptors in liver transplantation. **Liver Transplantation**, v. 20, p. 270-280, 2014.

HOYER, D.P.; PAUL, A.; GALLINAT, A.; MOLMENTI, E.P.; REINHARDT, R.; MINOR, T.; SANER, F.H.; CANBAY, A.; TRECKMANN, J. W.; SOTIROPOULOS, G.; MATHÉ, Z.

Donor information based prediction of early allograft dysfunction and outcome in liver transplantation. **Liver International**, 2014.

HWANG, J.K.; KIM, J.M.; KIM, S.D.; PARK, S.C.; KIM, J.I.; NAM, H.W.; KIM, J.; MOON, I.S. The early protective effect of glutamine pretreatment and ischemia preconditioning in renal ischemia-reperfusion injury of rat. **Transplantation Proceedings**, v.45, p. 3203-3208, 2013.

IKEGAMI, T.; SHIRABE, K.; YOSHIZUMI, T.; AISHIMA, S.; TAKETOMI, Y.A.; SOEJIMA, Y.; MAEHARA, Y. Primary graft dysfunction after living donor liver transplantation is characterized by delayed functional hyperbilirubinemia. **American Journal of Transplantation**, v. 12, p. 1886-1897, 2012.

JAESCHKE, H. Antioxidant defense mechanisms. In: MCQUEEN, C.A. (Ed.). **Comprehensive Toxicology**. Oxford: Academic Press, 2010. V.9, P. 319-337.

JAESCHKE, H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.**, v. 284, p.G15-G26, 2003.

JAESCHKE, H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: present concepts. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v.26, p.173-179, 2011.

JAESCHKE, H. Vascular oxidant stress and hepatic ischemia/reperfusion injury. **Free Radic. Res. Commun.**, v.12-13, p.737-743, 1991.

JAESCHKE, H.; BAUTISTA, A.P.; SPOLARICS, Z. et al. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. **Free Radic. Res. Commun.**, v.15, p. 277-284, 1991.

JAESCHKE, H.; FARHOOD, A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. **Am. J. Physiol.**, v.260, p. G355-G362, 1991.

JAESCHKE, H.; MITCHELL, J.R. Mitochondria and xanthine oxidase both generate reactive oxygen species in isolated perfused rat liver after hypoxic injury. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.160, p.140-147, 1989.

JAESCHKE, H.; WOOLBRIGHT, B. L. Current strategies to minimize hepatic ischemia-reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. **Transplantation Reviews**, v. 26, p. 103-114, 2012.

JANG, H.J.; KWAK, J.H.; CHO, E.Y.; WE, Y.M.; LEE, Y.H.; KIM, S.C.; HAN, D.J. Glutamine induces heat-shock protein-70 and glutathione expression and attenuates ischemic damage in rat islets. **Transplantation Proceedings**, v.40, p. 2581-2584, 2008.

JASSEN, W.; FUGGLE, S.; THOMPSON, R. et al. Effect of ischemic preconditioning on the genomic response to reperfusion injury in deceased donor liver transplantation. **Liver Transpl.**, v.15, p. 1750-65, 2009.

JUN, J.H.; KIM,G.S.; NA,Y.R.; GWAK, M.S.; KO,J.S.; LEE, S.K. Analysis of predictors for lactate elimination after reperfusion in recipients of living-donor. **Liver Transplantation**, v.46, p. 709-711, 2014.

KAELIN, W.G. JR.; RATCLIFFE, P. J. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. **Mol Cell.**, v. 30, p. 393-402, 2008.

KANG, S.W. ; CHAE, H.Z.; SEO, M.S. ; KIM, K.; BAINES, I.C. ; RHEE, S.G. Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factor-alpha. **J. Biol. Chem.**, v.273, p. 6297–6302, 1998.

KELLY, D.M.; SHIBA,H.; NAKAGAWA, S.; IREFIN, S.; EGHTEHAD, B.; QUINTINI, C.; AUCEJO, F.; HASHIMOTO, K.; FUNG, J.J.; MILLER, C. Hepatic blood flow plays an important role in ischemia-reperfusion injury. **Liver Transplantation**, v. 17, p. 1448-11456, 2011.

KEMPF, W.G.; LEBIEDZIEJEWSKI, M.; ALITALO, K. et al. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in bacillary angiomatosis: evidence for a role of hypoxia-inducible factor-1 in bacterial infections. **Circulation**, v. 111, p. 1054-62, 2005.

KENSLER, T.W.; WAKABAYASHI, N.; BISWAL, S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap 1-Nrf2-ARE Pathway. **Annu. Rev. pharmacol. Toxicol.**, v.47, p.89-116, 2007.

KHOGALI, S. E.; HARPER, A. A.; LYALL, J. A.; RENNIE, M.J. Effects of L-glutamine on post-ischaemic cardiac function: protection and rescue. **J Mol Cell Cardiol.**, v.30, p. 819-827, 1998.

KIM, I.K.; BEDI, D.S.; DENECKE, C.; GE, X.; TULLIUS, S.G. Impact of innate and adaptive immunity on rejection and tolerance. **Transplantation**, v.86, p.889-894, 2008.

KLAASSEN, C.D.; REISMAN, S.A. Nrf2 the rescue: effects of the antioxidante/eletrophilic response on the liver. **Toxicol Appl Pharmacol.**, v. 244, p. 57-65, 2010.

KLUNE, J.R.; DHUPAR, R.; CARDINAL, J.; BILLIAR, T.R.; TSUNG, A. HMGB1: endogenous danger signaling. **Mol Med** , v. 14, p. 476-484, 2008.

KNOWLES, H.U.; MOLE, D.R.; RATCLIFFE, P.J.; HARRIS, A.L. Normoxic stabilization of hypoxia-inducible factor-lalpha by modulation of the labile iron pool in differentiating U937 macrophages: effect of natural resistance-associated MACROPHAGE PROTEIN 1. **Cancer Res.**, v. 66, p. 2600-7, 2006.

KRUGER, B.; KRICK, S.; DHILLON, N. et al. Donor toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transpantion. **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v. 106, p. 3390-5, 2009.

KUHLICKE, J.; FRICK, J.S.; MOROTE-GARCIA, J.C.; ROSENBERGER, P.; ELTZSCHIG, H.K. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 coordinates induction of Toll-like receptors TLR2 and TLR6 during hypoxia. **Plos One**, v.2, p.e1364-e1364, 2007.

KUME, M.; YAMAMOTO, Y.; SAAD, S. et al. Ischemia preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. **Ann Transplant.**, v. 9, p. 84-87, 1996.

KUPIEC-WEGLINSKI, J.W.; BUSUTTIL, R.W. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. **Transplant Proc**, v.37, p.1653-1656, 2005.

LANG, J.D.; TENG, X.; CHUMLEY, P.; CRAWFORD, J.H.; ISBELL, T.S.; CHACKO, B.K.; LIU, Y.; JHALA, N.; CROWE, D.R.; SMITH, A.B. et al. Inhaled no accelerates restoration of liver function in adults following orthotopic liver transplantation. **J Clin Invest.**, v.117, p.2583-2591, 2007.

LEHNERT, M.; ARTEEL, G.E.; SMUTNEY, O.M. et al. Dependence of liver injury after hemorrhage/resuscitation in mice on NADPH oxidase-derived superoxide. **Shock**, v.19, p.345-351, 2003.

LEMASTERS, J.J.; QIAN, T.; HE, L. et al. Role of mitochondrial inner membrane permeabilization in necrotic cell death, apoptosis, and autophagy. **Antioxid. Redox. Signal.**, v.4, p.769-781, 2002.

LIN, Z.; CAI, F.; YE, J.; ZHENG, Q.; DING, G. Effects of glutamine on oxidative stress and nuclear factor-kB expression in the livers of rats with nonalcoholic fatty liver disease. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 7, nn.2, p. 365-370, 2014.

LIU, P.; FISHER, M.A.; FARHOOD, A. et al. Beneficial effects of extracellular glutathione against endotoxin-induced liver injury during ischemia nad reperfusion. **Circ. Shock.**, v.43, p.64-70, 1994.

LIU, P.G.; HE, S.Q.; ZHANG, Y.H. et al. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia/reperfusion-induced liver injury in mice. **World J. Gastroenterol.**, v. 14, p. 2832-2837, 2008.

LLACUNA, L.; MARI, M.; LLUIS, J.M.; GARCIA-RUIZ, C.; FERNANDEZ-CHECA, J.C.; MORALES, A. Reactive oxygen species mediate liver injury through parenchymal nuclear factor-kappaB inactivation in prolonged ischemia/reperfusion. **Am J Pathol.**, v.174, p.1776-1785, 2009.

LOCK, J.F.; SCHWABAUER, E.; MARTUS, P.; VIDEV, N.; PRATSCHKE, J.; MALINOWSKI, M.; NEUHAUS, P.; STOCKMANN, M. Early diagnosis of primary nonfunction and indication for reoperation after liver transplantation. **Liver Transplantation**, v. 16, p. 172-180, 2010.

LOTZE, M.T.; ZEH, H.J.; RUBARTELLI, A.; SPARVERO, L.J.; AMOSCATO, A.A.; WASHBURN, N.R. et al. The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity. **Immunol Rev**, v.220, p.60-81, 2007.

LU, S.C. Regulation of glutathione synthesis. **Mol. Aspects. Med.**, v.30, p.42-59, 2009.

LUNDBERG, J.O.; GLADWIN, M.T.; AHLUWALIA, A.; BENJAMIN, N.; BRYAN, N.S.; BUTLER, A.; CABRALES, P.; FAGO, A.; FEELISCH, M.; FORD, P.C. et al. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. **Nat Chem Biol.**, v.5, p.865–869, 2009.

MADESH, M.; HAJNOCZKY, G. VDAC-dependent permeabilization of the outer mitochondrial membrane by superoxide induces rapid and massive cytochrome c release. **J Hepatobiliary Pancreat Surg**, v.10, p.195-199, 2003.

MAK, S. NEWTON, G.E. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. **Chest**, v.120, p. 2035-2046, 2001.

MARCHI, S.G. ; SUSKI, C. ; AGNOLETO, J.; BONONI, A.; BONORA, M.; DE MARCHI, E. ; MISSIROLI, S.; PATERGNANI, S.; POLETTI, F.; RIMESSI, A.; DUSZYNSKI, J.; WIECKOWSKI, M.; PINTON, P. Mitochondria-ros crosstalk in the control of cell death and aging. **J. Signal Transduct**, 2012.

MARCZIN, N. The biology of exhaled nitric oxide (NO) in ischemia-reperfusion-induced lung injury: a tale of dynamism of NO production and consumption. **Vascul. Pharmacol.**, v.43, p. 415–424, 2005.

MARING, J.K.; KLOMPMAKER, I.J.; ZWAVELING, J.H.; KRANENBURG, K.; TEN VERGERT, E.M.; SLOOFF, M.J. Poor initial graft function after orthotopic liver transplantation: can it be predicted and does it affect outcome? An analysis of 125 adult primary transplantations. **Clin Transplant**, v.11: 373-379, 1997.

MARING, J.K. **Studies on predictability of early graft function after liver transplantation.** Groningen, the Netherlands: Rijksuniversiteit, 2005.

MATÉS, J.M.; PÉREZ, C.; CASTRO, I.N.; ASENJO, M.; MÁRQUEZ, J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 34, p. 439-458, 2002.

MATSUI, N.; SATSUKI, I.; MORITA, Y.; INAZUMI, K.; KASAJIMA, K.; KANO, R. et al. Xanthine oxidase-derived reactive oxygen species activate nuclear factor kappa B during hepatic ischemia in rats. **Jpn J Pharmacol**, v. 84, p. 363-366, 2000.

MEDZHITOV, R.; PRESTON-HURLBURT, P.; JANEWAY, C.A. Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. **Nature**, v.388, p.394-397, 1997.

MELIS, G.C.; TER WENGE, I.N.; BOELEN, P.G. VAN LEEUWEN, P.A. Glutamine: recent developments in research on the clinical significance of glutamine. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.7, p. 59-70, 2004.

MONBALIU, D.; LIU, Q.; LIBBRECHT, L.; DE VOS, R.; VEKEMANS, K.; DEBBAUT, C.; DETRY, O.; ROSKAMS, T.; VAN PELT, J.; PIRENNE, J. Preserving the morphology and evaluating the quality of liver grafts by hypothermic machine perfusion: a proof-of-concept study using discarded human livers. **Liver Transplantation**, v.18, p. 1495-1507, 2012.

- MONDELLO, S.; GALUPPO, M.; MAZZON, E.; DOMENICO, I.; MONDELLO, P.; CARMELA, A.; CUZZOCREA, S. Glutamine treatment attenuates the development of ischaemia/reperfusion injury of the gut. **European Journal of Pharmacology**, v. 643, p. 304-315, 2010.
- MONTALVO-JAVE, E.E.; ESCALANTE-TATTERSFIELD, T.; ORTEGA-SALGADO, J.A.; PINA, E.; GELLER, D.A. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. **J Surg Res**, v.147, p.153-159, 2008.
- MOR, E.; KLINTMAILM, G.B.; GONWA, T.A.; SOLOMON, H.; HOLMAN, M.J.; GIBBS, J.F. et al. The use of marginal donors for liver transplantation. A retrospective study of 365 liver donors. **Transplantation**, v.53, p. 383-386, 1992.
- MORRISON, A.L.; DINGES, M.; SINGLETON, K.D.; ODOMS, K.; WONG, H.R.; WISCHMEYER, P.E. Glutamine's protection against cellular injury is dependent on heat shock factor-1. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 290, p. G1625-G1632, 2006.
- NANASHIMA, A.; PILLAY, P.; VERRAN, D.J.; PAINTER, D.; NAKASUJI, M.; CRAWFORD, M. *et al.* Analysis of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation: experience of an Australian single liver transplantation center. **Transplant Proc.**, v.34, p.1231-1235, 2002.
- NAUDI, A.; JOVE, M.; AYALA, V.; CASSANYE, A.; SERRANO, J.; GONZALO, H.; BOADA, J.; PRAT, J.; PORTERO-OTIN, M.; PAMPLONA, R. Cellular dysfunction in diabetes as maladaptive response to mitochondrial oxidative stress. **Exp. Diab. Res.**, 2012.
- NAUGLER, W.E.; KARIN, M. NF-kappaB and cancer-identifying targets and mechanism. **Curr Opin Genet Dev**, v. 18, p.19-26, 2008.
- NEGRE-SALVAYRE, A.; AUGÉ, N.; AYALA, V. et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. **Free Radic. Res.**, v. 44, p.1125-1171, 2010.
- NORDSTROM, G.; SEEMAN, T.; HASSELGREN, P.O. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. **Surgery**, v. 97, p. 679-84, 1985.
- OBAYAN, A. **Oxidative stress**: Natural history and modulation in surgery and trauma patients. In: DEPARTMENT OF SURGERY. Saskatoon: ed. University of Saskatchewan, 2004. V. PhD.
- OLTHOFF, K.M.; KULIK, L.; SAMSTEIN, B.; KAMINSKI, M.; ABECASSIS, M.; EMOND, J.; SHAKED, A.; CHRISTIE, J.D. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. **Liver Transplantation**, v.16, p. 943-949, 2010.
- ORSUCCI, D.; MANCUSO, M.; LENCO, E.C.; LOGERFO, A.; SICILIANO, G. Targeting mitochondrial dysfunction and neurodegeneration by means of coenzyme Q10 and its analogues. **Curr Med Chem.**, v.18, p. 4053-4064, 2011.
- PAN, X.; APINYACHON, W.; XIA, W.; HONG, J.C.; BUSUTTIL, R.W.; STEADMAN, R.H.; XIA, V. W. Perioperative complications in liver transplantation using grafts from

donation after cardiac death: a propensity-matched study. **Liver Transplantation**, p.2-26, 2014.

PARK, J.B.; JOH, J.; KIM, S.; KWON, C.D.; CHUN, J.M.; KIM, J.M.; MOON, J.I.; LEE, S. Effect of intermittent hepatic inflow occlusion with the pringle maneuver during donor hepatectomy in adult living donor liver Transplantation with right hemiliver grafts: a prospective, randomized controlled study. **Liver Transplantation**, v. 18, p. 130-138, 2012.

PARK, J.S.; SVETKAUSKAITE, D.; HE, Q.; KIM, J.Y.; STRASSHEIM, D.; ISHIZAKA, A.; ABRAHAM, E. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. **J Biol Chem**, v.279, p.7370-7377, 2004.

PARSONS, R.F.; GUARRERA, J.V. Preservation solutions for static cold storage of abdominal allografts: which is best?. **Current Opinion in organ Transplantation**, v.19, p.100-107, abr. 2014.

PASPARAKIS, M. IKK/NF-kappaB signaling in intestinal epithelial cells controls immune homeostasis in the gut. **Mucosal Immunol**, v.1:Suppl 1, p.S54-S57, 2008.

PATEL, R.P.; LANG, J.D.; SMITH, A.B.; CRAWFORD, J. H. redox therapeutics in hepatic ischemia reperfusion injury. **World journal of hepatology**, v.6, n. 1, p. 1-8, jan. 2014.

PENG, C.; HUANG, K.; WU, C.; LI, M.; HU, Y.; HSU, C.; TSAI, S.; CHU, S. Glutamine protects ischemia-reperfusion induced acute lung injury in isolated rat lungs. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 24, p. 153-161, 2011.

PERALTA, C.; BULBENA, O.; XAUS, C. et al. Ischemic preconditioning : a defense mechanism against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia reperfusion. **Transplantation**, v.73, p.12-3.1211, 2002.

PERALTA, C.; FERNANDEZ, L.; PANES, J.; PRATS, N.; SANS, M.; PIQUE, J.M. et al. Preconditioning protects against systemic disorders associated with hepatic ischemia-reperfusion through blockade of tumor necrosis factor-induced P-selectin up-regulation in the rat. **Hepatology**, v.33, p. 100-113, 2001.

PHILLIPS, L.; TOLEDO, A.H.; LOPEZ-NEBLINA, F.; NAYA-PRADO, R.; TOLEDO-PEREYRA, L.H. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. **J Invest Surg**, v.22, p.46-55, 2009.

PINE, J.K.; ALDOURI, A.; YOUNG, A.L.; DAVIES, M.H.; ATTIA, M.; TOOGOOD, G.J. et al. Liver transplantation following donation after cardiac death: an analysis using matched pairs. **Liver Transpl**, v. 15, p. 1072-1082, 2009.

PIRES, V.L.S.; SOUZA, J.R.F.; GUIMARÃES, S.B.; SILVA FILHO, A.R.; GARCIA, J.H.P.; VASCONCELOS, P.R.L. Pré-condicionamento com L-alanil-L-glutamina em modelo de isquemia-reperfusão cerebral aguda em Gerbils da Mongólia. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.26, supl.1, 2011.

PLOEG, R.J.; D'ALESSANDRO, A.M.; KNECHTLE, S.J.; STEGALL, M.D.; PIRSCH, J.D.; HOFFMANN, R.M. *et al.* Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation—a multivariate analysis. **Transplantation**, v. 55: 807-813, 1993.

POKORNY, H.; GRUENBERGER, T.; SOLIMAN, T.; ROCKENSCHAUB, S.; LANGLE, F.; STEININGER, R. Organ survival after primary dysfunction of liver grafts in clinical orthotopic liver transplantation. **Transpl Int.**, v.13( suppl 1), p.S154-S157, 2000.

PREM, T.J.; EPPINGER, M.; LEMMON, G.; MILLER, S.; NOLAN, D.; PEOPLES, J. The roles of glutamine in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury in the rat hind limb model. **Am J Surg.**, v.178, p. 147-150, 1999.

RAJESH, M.; PAN, H.; MUKHOPADHYAY, P.; BATKAI, S.; OSEI-HYIAMAN, D.; HASKO, G. *et al.* Cannabinoid-2 receptor agonist HU-308 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis. **J Leukoc Biol.**, v. 82, p. 1382-1389, 2007.

RIGOTTI, A. Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin. **E. Mol. Aspects Med.**, v.28, p. 423-436, 2007.

RISBY, T.H.; MALEY, W.; SCOTT, R.P. *et al.* Evidence for free radical-mediated lipid peroxidation at reperfusion of human orthotopic liver transplants. **Surgery**, v.115, p. 94-101, 1994.

ROSEN, H.R.; MARTIN, P.; GOSS, J.; DONOVAN, J.; MELINEK, J.; RUDICH, S. *et al.* Significance of early aminotransferase elevation after liver transplantation. **Transplantation**, v. 65, p.68-72, 1998.

ROSENFELDT, F.; WILSON, M.; LEE, G.; KURE, C.; OU, R.; BRAUN, L.; HAAN, J. Oxidative stress in surgery in an ageing population: pathophysiology and therapy. **Experimental gerontology**, v. 48, p. 45-54, 2013.

ROTH, E.; OEHLER, R.; MANHART, N.; EXNER, R.; WESSNER, B.; STRASSER, E.; SPITTLER, A. Regulative potential of glutamine relation to glutathione metabolism. **Nutrition**, v. 18, p. 217-221, 2002.

RUDIGER, H.A.; GRAF, R.; CLAVIEN, P.A. Liver ischemia: apoptosis as a central mechanism of injury. **J Invest Surg.**, v. 16, p. 149-59, 2003.

SAKAI, T.; TAKAYA, S.; FUKUDA, A.; HARADA, O.; KOBAYASHI, M. Evaluation of warm ischemia-reperfusion injury using heat shock protein in the rat liver. **Transpl Int.**, v.16, p. 88-99, 2003.

SANLIOGLU, S.; WILLIAMS, C.M.; SAMAVATI, L.; BUTLER, N.S.; WANG, G.; MCCRAY, P.B. Jr. *et al.* Lipopolysaccharide induces Rac1-dependent reactive oxygen species formation and coordinates tumor necrosis factor- $\alpha$  secretion through IKK regulation of NF- $\kappa$ B. **J Biol Chem**, v.276, p.30188-30198, 2001.

SARKUT, P.; GULCU, B.; ISCIMEN, R.; KIYICI, M.; TURKER, G.; TOPAL, N. B.; OZEN, Y.; KAYA, E. Early graft dysfunction and mortality rate in marginal donor liver transplantation. **Turkish journal of medical sciences**, v. 44, p. 709-711, 2014.

SCHAUER, R.J.; KALMUK, S.; GERBES, A.L. et al. Intravenous administration of glutathione protects parenchymal and non-parenchymal liver cell against reperfusion injury following rat liver transplantation. **World J. Gastroenterol.**, v.10, p. 864-870, 2004.

SCHEPPACH, W.; LOGES, C.; BARTRAM, P.; CHRISTL, S.U.; RICHTER, F.; DUSEL, G. et al. Effect of free glutamine and alanyl-glutamine dipeptide n on mucosal proliferation of the human ileum and colon. **Gastroenterology**, v. 107, p. 429-434, 1994.

SCHUSTER, H.; BLANC, M.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; NAKIB, S.; LE TOURNEAU, A.; FURST, P.; CYNOBER, L.; DE BRANDT, J. Protect effects of glutamine dipeptide and alfa-tocopherol against ischemia-reperfusion injury in the isolated rat liver. **Clinical Nutrition**, v. 28, n.3, p. 331-337, jun. 2009.

SCHWABE, R.F.; BRENNER, D.A. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol** , v. 290, p.G583-G589, 2006.

SEKI, E.; BRENNER, D.A. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. **Hepatology** , v.48, p.322-335, 2008.

SELZNER, M.; SELZNER, N.; JOCHUM, W.; GRAF, R.; CLAVIEN, P.A. Increased ischemic injury in old mouse liver: an ATP-dependent mechanism. **Liver Transpl.** , v.13, p.382-390, 2007.

SEMENZA, G.L. Life with oxygen. **Science**, v.318, p. 62-4, 2007.

SERRANO, E.; DIAZ, J.; ACOSTA, F. et al. Relationship between cold ischemia time and lipid peroxidation in liver transplantation. **Transplant Proc.**, v.32, p.p. 2648, 2000.

SHIBUYA, H.; OHKOHCHI, N.; SEYA, K. et al. Kupffer cells generate superoxide anions and modulate reperfusion injury in rat livers after cold preservation. **Hepatology**, v.25, p. 356-60, 1997.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Exp. Physiol.**, v.82 , p. 291–295, 1997.

SINDRAM, D.; RÜDIGER, H.A.; UPADHYA, A.G. et al. Ischemic preconditioning protects against cold ischemic injury through an oxidative stress dependent mechanism. **J. Hepatol.**, v.36, p. 78-84, 2002.

SINGH, R.; CZAJA, M.J. Regulation of hepatocyte apoptosis by oxidative stress. **J Cell Biol**, v.155, p.1003-1015, 2001.

SINGLETON, K.D.; WISCHMEYER, P.E. Oral glutamine enhances heat shock protein expression and improves survival following hyperthermia. **Shock**, v.25, p.295-299, 2006.

SOZEN, S.; REK, M.K.; YLDIZ, F.; ITAS, M.; DINKEL, A.S. The effects of glutamine on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. **Hippokratia**, v.15, n. 2, p.161-166, 2011.

SRINIVASAN, P.K.; YAGI, S.; DOORSCHDT, B.; NAGAI, K.; AFIFY, M.; UEMOTO, S.; TOLBA, R. Impact of venous systemic oxygen persufflation supplemented with nitric oxide gas on cold-stored, warm ischemia-damaged experimental liver grafts. **Liver Transplantation**, v.18, p. 219-225, 2012.

STANGL, R.; SZIJARTÓ A.; ÓNODY, P.; TAMÁS, J.; TÁTRAI, M.; HEGEDUS, V.; BLÁZOVICS, A.; LOTZ, G.; KISS, A.; MÓDIS, K.; GERO, D.; SZABÓ, C.; KUPCSULIK, P.; HARSÁNYI, L. Reduction of liver ischemia-reperfusion injury via glutamine pretreatment. **Journal of Surgical Research**, v. 166, p.95-103, 2011.

STEENKS, M.; VAN BAAL, M.C.P.M.; NIEUWENHUIJS, V.B.; BRUJIN, M.T.; SCHIESSER, M.; TEO, M.H.; CALLAHAN, T.; PADBURY, R. T.A.; BARRITT, G.J. Intermittent ischaemia maintains function after ischaemia reperfusion in steatotic livers. **HPB**, v. 12, p. 250-261, 2010.

TAKEDA, A.; ONODERA, H.; SUGIMOTO, A. et al. Increased expression of heme oxygenase mRNA in rat brain following transient forebrain ischemia. **Brain. Res.**, v. 666, p.120–124, 1994.

TAKEUCHI, D.; YOSHIDOME, H.; KUROSAWA, H.; KIMURA, F.; SHIMIZU, H.; OHTSUKA, M. et al. Interleukin-18 exacerbates pulmonary injury after hepatic ischemia/reperfusion in mice. **J. Surg Res**, v. 158, p. 87-93, 2010.

TANIAI, H.; HINES, I.N.; BHARWANI, S.; MALONEY, R.E.; NIMURA, Y.; GAO, B. et al. Susceptibility of murine periportal hepatocytes to hypoxia-reoxygenation: role for NO and Kupffer cell-derived oxidants. **Hepatology**, v.39, p.1544-1552, 2004.

TAYLOR, C.T. Interdependent roles for hypoxia inducible factor and nuclear factor-kappaB in hypoxic inflammation. **J Physiol**, v.586, p.4055-4059, 2008.

TERZIOGLU, M.; LARSSON, N.G. **Mitochondrial dysfunction in mammalian ageing**, v. 287, p. 197–208, 2007.

THERUVATH, T.P.; ZHONG, Z.; PEDIADITAKIS, P. et al. Minocycline and N-methyl-4-isoleucine cyclosporine (NIM811) mitigate storage/reperfusion injury after rat liver transplantation through suppression of the mitochondrial permeability transition. **Hepatology**, v.1, p. 236-246, 2008.

TOLEDO-PEREYRA, L.H.; SIMMONS, R. L.; NAJARIAN, J.S. Protection of the ischemic liver by donor pre-treatment before transplantation. **Am J Surg.**, v. 129, p. 513-517, 1975.

TSAI, Y.F.; LIU, F.C.; SUNG, W.C.; LIN, C.C.; CHUNG, P.C.H.; LEE, W.C.; YU, H.P. Ischemic reperfusion injury induced oxidative stress and pro-inflammatory mediators in liver transplantation recipients. **Transplantation Proceedings**, v. 46, p.1082-1086, 2014.

TSUNG, A.; SAHAI, R.; TANAKA, H.; NAKAO, A.; FINK, M.P.; LOTZE, M.T. et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. **J Exp Med**, v.201, p.1135-1143, 2005.

UMEDA, K.; TAKAHASHI, T.; INOUSE, K.; SHIMIZU, H.; MAEDA, S.; MORIMATSU, H.; OMORI, E.; AKAGI, R.; KATAYAMA, H.; MORITA, K. Prevention of hemorrhagic shock-induced intestinal tissue injury by glutamine via heme oxygenase-1 induction. **Schock**, v.31, p. 40-49, 2009.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M. ; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v.39, p. 44–84, 2007.

VARDANIAN, A.J.; BUSUTTIL, R.W.; KUPIEC-WEGLINSKI, J.W. molecular mediators of liver ischemia and reperfusion injury: a brief review . **Mol Med.**, v.14, p. 337-345, 2008.

WEINBROUM, A.A. N-acetyl-L-cysteine mitigates aortic tone injury following liver ischemia-reperfusion. **J Cardiovasc Pharmacol**, v.45, p.509-515, 2005.

WERTHEIM, J.A.; PETROWSKY, H.; SAAB, S.; KUPIEC-WEGLINSKI, J.W.; BUSUTTIL, R.W. Major challenges limiting liver transplantation in the United States. **American Journal of Transplantation**, v.11, p. 1773-1784, 2011.

WIDLANSKY, M.E.; GUTTERMAN, D.D. Regulation of endothelial function by mitochondrial reactive oxygen species. **Antioxid Redox Signal**, v.15, p.1517-1530, 2011.

WISCHMEYER, P.E. Glutamine and heat shock protein expression. **Nutrition**, v. 18, p. 225-228, 2002.

WISCHMEYER, P.E. Glutamine: mode of action in critical illness. **Crit Care Med.**, v.35, p. 541-544, 2007.

WISCHMEYER, P.E.; JAYAKAR, D.; WILLIAN, U.; SINGLETON, K.D.; RIEHM, J.; BACHA, E.A. JEEVANANDAM, V.; CHRISTIAN, U.; SERKOVA, N. Single dose of glutamine enhances myocardial tissue metabolism, glutathione content, and improves myocardial function after ischemia-reperfusion injury. **J. Parenter Enteral Nutr.**, v. 27, p. 396-403, 2003.

WISCHMEYER, P.E.; MUSCH, M.W.; MADONNA, M.B.; THISTED, R.; CHANG, E.B. glutamine protects intestinal epithelial cells: role of inducible HSP70. **Am J Physiol**, v. 272, p. G879-G884, 1997.

XU, G.; SUN, R.; QIAO, X.; XU, C.; SHANG, X.; NIU, W. Protective effect of glutamine on intestinal injury and bacterial community in rats exposed to hypobaric hypoxia environment. **World Journal of Gastroenterology**, v.20, n.16, p. 4662-4674, apr. 2014.

YAMAGUCHI, T.; TERAOKA, M.; HORIO, F. et al. Role of bilirubin as an antioxidant in an ischemia-reperfusion of rat liver and induction of heme oxygenase. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.223, p. 129-135, 1996.

YUAN, L.; KAPLOWITZ, N. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. **Mol. Aspects. Med.**, v.30, p. 29-41, 2009.

ZHANG, S.; SHI, Q.; FENG, Y.; FANG, J. Tissue-protective effect of glutamine on hepatic ischemia-reperfusion injury via induction of heme oxygenase-1. **Pharmacology**, v.91, p. 59-68, 2013.

ZHAO, K.; ZHAO, G.M.; WU, D.; SOONG, Y.; BIRK, A.V.; SCHILLER, P.W. et al. Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury. **J Biol Chem**, v. 279, p.34682-34690, 2004.

ZHONG, Z.; RAMSHESH, V.K.; REHMAN, H. et al. Activation of the oxygen-sensing signal cascade prevents mitochondrial injury after mouse liver ischemia-reperfusion. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.**, v.95, p.G823-G832, 2008.

ZIEGLER, T.R.; OGDEN, L.G.; SINGLETON, K.D.; LUO, M.; FERNANDEZ-ESTIVARIZ, C.; GRIFFITH, D.P.; GALLOWAY, J.R.; WISCHMEYER, P.E. Parenteral glutamine increases serum heat shock protein 70 in critically ill patients. **Intensive care Med.**, v.31, p. 1079-1086, 2005.

## APÊNDICE A – Dados Brutos

Grupo Controle							
Receptor			Doador			Tempo de isquemia	
ID	Idade	Sexo	Idade	Esteatose	Meld	Fria	Quente
MGLM	63	Fem	27	NÃO	20	315	20
TBSL	70	Fem	48	LEVE	23	260	23
LMP	23	Fem	26	LEVE	20	250	27
FAV	66	Masc	23	NÃO	22	275	25
MASS	21	Fem	69	LEVE	21	212	21
TCST	64	Fem	25	NÃO	20	271	27
MRGL	44	Fem	49	LEVE	20	285	35
HSPB	62	Masc	46	LEVE	20	325	30
LRL	68	Fem	56	MOD	20	363	27
MDM	52	Masc	48	LEVE	20	251	25
FHGS	51	Masc	56	LEVE	27	295	35
JRFM	58	Masc	16	LEVE	21	396	27
FNA	59	Masc	41	NÃO	20		
JSS	70	Masc	57	LEVE	24	235	35
MAS	58	Masc	47	LEVE	20	450	30
JCS	65	Masc	17	LEVE	20	300	30
FPS	65	Masc	42	NÃO	20	241	27

Grupo Glutamina							
Receptor			Doador			Tempo de isquemia	
ID	Idade	Sexo	Idade	Esteatose	Meld	Fria	Quente
RNAA	63	Masc	15	LEVE	17	180	25
APR	60	Masc	46	NÃO	18	340	35
ACSL	15	Fem	22	LEVE	20	275	25
CMC	26	Fem	62	LEVE	21	287	32
MTS	70	Masc	44	NÃO	24	205	30
SLM	42	Masc	67	MOD	20	323	32
CF	59	Masc	40	LEVE	24	263	31
ACSF	56	Masc	18	NÃO	21	310	25
CNA	54	Masc	19	NÃO	20	217	38
MAMP	55	Fem	14	NÃO	20	100	28
LCGP	59	Masc	18	LEVE	14	555	25
CARP	66	Masc	48	NÃO	24	225	34
MPSLC	59	Fem	7	NÃO	20	213	25
MLC	30	Masc	63	LEVE	24	266	28
MIFA	38	Fem	48	LEVE	20	277	25
LAC	58	Fem	10	LEVE	20	180	25

AST - Controle								
	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
MGLM	84				1348	780		330
TBSL		35	31	450	1956	453	29	14
LMP	28	106	568	904	48	210	28	17
FAV	103	31	355	369	160	81	34	
MASS	23	73	1601	1833	683	180	66	38
TCST	135	49	1008	1180	2801	242	120	41
MRGL	26	342	2252	2766	1509	948	122	54
HSPB	49	49	1136	1357	2205	1193	79	
LRL	13	82	4576	2377	8156	2188	612	
MDM	97	154	3621	3401	2288	685	107	41
FHGS			1614	1508	1817	1269	56	14
JRFM	173	72	1544	1053	818	547	60	56
FNA	39	38	668	913	331	252	68	21
JSS	362	20	809	1608	1709	657	61	15
MAS	236	42	1391	1682	1543	1045	70	33
JCS	81	97	686	519	446	90	17	61
FPS	865	127	1037	2351	8369	5606	289	81

<b>AST - Glutamina</b>								
	<b>S0</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>	<b>S7</b>
RNAA	660	71			1079	1079	47	
APR	24	30	790	888	440	44	40	11
ACSL	25		951	1268	272	297	169	234
CMC	47	39	2697	2581	1014	493	95	35
MTS	113	141	2145	2355	3187	672	109	116
SLM	212	154	5943	6863	7806	4959	284	294
CF	22	35	1508	1797	1903	9499	1514	
ACSF	67	65	734	406	455	95	76	71
CNA	60	93	3608	4251	1739	422	178	89
MAMP	29	38	941	1384	781	259	32	34
LCGP	112	54	3521	3564	1542	314	59	37
CARP		79	570	522	331	169	49	28
MPSLC	27	35	502	490	213	185	39	12
MLC	21	202	1781	2968	1029	645	78	21
MIFA	142	141	16	2005	1120	477	209	20
LAC	645	869	2506	3113	1530	658	38	25

<b>ALT - Controle</b>								
	<b>S0</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>	<b>S7</b>
MGLM	147				712	916		670
TBSL		17	14	183	1082	-	255	17
LMP	32	54	671	938	32	719	184	49
FAV	108	23	218	240	178	149	71	
MASS	29	38	1413	1633	1331	781	302	41
TCST	97	24	282	349	1718	878	276	89
MRGL	30	135	1426	1653	2580	2100	381	67
HSPB	20	63	982	1281	2394	2085	361	
LRL	11	40	1410	1016	2211	1248	606	
MDM	46	103	1626	1394	1511	1147	299	74
FHGS			1334	1093	1282	1906	241	11
JRFM	65	30	1451	846	843	974	347	92
FNA	20	23	670	837	619	580	267	42
JSS	591	17	498	981	1219	845	321	26
MAS	405	30		1088	1049	1221	313	58
JCS	28	42	563	510	450	300	67	91
FPS	425	167	554	1199	3387	1918	356	36

<b>ALT -Glutamina</b>								
	<b>S0</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>	<b>S7</b>
RNAA	250	33			824	829		
APR	15	13	563	634	402	176	96	10
ACSL	24	91	573	690	476	353	288	273
CMC	36	37	1507	1439	825	640	183	62
MTS	46	155	1816	1911	2270	1776	649	322
SLM	100	111	2946	2880	2593	2444	255	68
CF	24	21	998	1032	1005	5378	1256	
ACSF	35	56	580	470	516	314	167	129
CNA	22	113	2234	2272	1448	1041	465	208
MAMP	22	47	713	818	595	371	129	84
LCGP	162	40	2461	2509	1906	1361	253	69
CARP		99	438	421	285	224	89	45
MPSLC	17	22	147	118	82	97	59	8
MLC	40	113	1197	1928	1075	1409	385	33
MIFA	40	89	1414	1532	1090	859	417	30
LAC	318	618	1871	2017	1412	1141	239	80

<b>INR - Controle</b>								
	<b>S0</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>	<b>S7</b>
MGLM	1,31							
TBSL		3,1		>10	1,23	1,08		-
LMP	1,14	2,14	2,46	3,02	5,86	1,59	1,22	-
FAV			1,96	1,52	1,95	1,75	1,31	
MASS	1,15	1,59	2,74	2,92	1,56	1,45	1,25	
TCST	1,5	2,07	2,83	3,14	1,45	1,03	1,04	
MRGL	1,22	2,07	2,85	4,81	1,33	1,12	1,27	0,97
HSPB	1,23	1,05	1,75	1,87	2,13	2	1,4	
LRL	1,07	1,61	>10	1,78	1,45	1,32	1,34	
MDM	1,63	1,21	1,43	1,67	3,32	1,68	1,66	
FHGS	1,05	2,9	1,89	3,35	1,73	1,47	1,28	1,04
JRFM	1,71	1,73	2,01	3,02	3,34	1,77	1,11	
FNA	1,25	1,64	2,81	2,87	3,38	1,8	1,11	
JSS	1,6	0,98	1,97	1,31	1,45	1,03	1,07	
MAS	1,2	1,35	1,86	1,51	1,09	1,06	1,03	
JCS	1,8	1,01	1,46	1,86	1,42	0,96	0,89	0,86
FPS	1,2	1,21	1,58	1,86	1,86	1,22	1,25	1,16

INR - Glutamina								
	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
RNAA	1,32	1,55			1,88			
APR	1,03	1,4	1,87	2,25	1,56	1,09	1,08	-
ACSL	1,22	1,84	3,68	3,07	1,8	1,17	-	1,06
CMC	1,2	2,09	>10	2,16	2,88	1,65	1,11	
MTS	1,3	1,07	>10	1,75	1,41	1,11	0,98	
SLM	1,23	1,62	>10	>>10	>10	4,22	1,78	1,27
CF	1,2	2,19	>10	>10	2,96	3,46	>10	
ACSF		2,16	2,55	2,21	2,2	1,19	1,22	1,17
CNA	1,31	1,13	>10	2,37	2,01	1,05	1,14	1,02
MAMP	1,27	1,13	1,56	1,87	1,96	1,04	1,1	
LCGP	1,18	1,46	2,2	3,07	2,06	1,12	1,08	
CARP	1,36	1	1,65	1,77	1,67	1,11	1,23	
MPSLC		1,57	2,55	1,76	2,95	1,73	0,96	
MLC	1,26	1,69	2,39	2,58	2,26	1,49	1,32	
MIFA		1,48	1,86	2,87		1,2	1,12	
LAC	1,18	1,46	1,81	1,44	1,31	1,04	1,01	

BT - Controle								
ID	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
MGLM	0,48					1,9		-
TBSL	0,32	3,49	3,06	2,78	1,44	0,92	0,77	0,59
LMP	0,22	4,04	2,45	2,83	2,38	4,7	1,53	0,8
FAV		2,88	2,72		0,91	1,21	0,68	
MASS	0,96	8,13	4,17	3,72	4,62	1,92	6,98	1,16
TCST	1,47	2,73	3,21	4,27	8,29	9,55	3,74	0,79
MRGL	0,45	6,47	5,49	5,49	28,03	24,03	19,19	4,93
HSPB	0,91	0,73	2,02	2,82		3,24	7,05	
LRL	0,16	12,87	3,97	3,05	3,44	9,15	17,49	
MDM	0,82	1,59	2,04	1,87	3,87	4,24	11,67	2,55
FHGS	0,35	11,72	3,51	2,81	2,92	4,93	8,04	0,96
JRFM		3,84			3,67	2,28	3,83	0,98
FNA	0,14	5,7	4,11	5,18	2,62	3,73	1,74	1,23
JSS	0,77	0,43	1,68		0,81	0,54	0,89	0,54
MAS	0,33	1,16	3,03		1,65	1,3	3,07	0,66
JCS	0,23	3,73	2,02	1,92	0,82	0,64	0,59	1,52
FPS	0,79	1,26	2,4	1,6	5,26	4,65	10,89	1,61

<b>BT - Glutamina</b>								
	<b>S0</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>	<b>S7</b>
RNAA	0,97	2,47			2,12	2,12	0,44	
APR		1,47	3,91	5,09	6,32	3,21	1,19	0,52
ACSL	0,67	6,44	3,48	4,37	1,82	4,7	10,03	4
CMC	3,82	2,24	2,55	3,38	2,28	2,47	1,91	0,58
MTS	0,2	1,44	1,06	1,26	1,57	0,7	0,9	0,45
SLM	0,4	11,51	7,43	8,23	10,55	13,1	19,19	1,95
CF	0,36	2	2,27		6,6	10,93	12,19	
ACSF	0,49	4,62	5,04	4,62	5,8	5,76	2,23	0,78
CNA	1,83	1,84	1,8	2,1	1,72	3,47	9,78	2,83
MAMP		1,22	1,46	2,01	1,44	0,8	0,67	0,74
LCGP	1,28	2,14	3,18	3,3	7,45	3,7	2	0,96
CARP	0,311	1,32	2,47	3,06	3,57	1,89	1,07	1,18
MPSLC	0,31	5,42	2,65	4,26	3,75	1,56	0,83	0,51
MLC	0,75	27,66		16,99	13,4	14,18	16,99	5,78
MIFA	0,65	17,19		4,75	4,56		6,99	1,48
LAC	0,75	1,67	2,06		4,05	2,98	1,11	1,23

<b>MDA – Controle</b>			
<b>ID</b>	<b>B0</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>
MGLM	101	510	34,0
TBSL	264	772	344
LMP	354	478	624
FAV	24	424	26
MASS	163		184
TCST		46	38
MRGL	54	208	67
HSPB	84	380	406
LRL	121	524	106
MDM	29	68	75
FHGS			
JRFM	56	177	71
FNA	72	99	130
JSS	63	204	68
MAS			
JCS	71	588	61
FPS	70	26	51

<b>MDA - Glutamina</b>			
	107	596	97
RNAA	151	388	48
APR	58	494	
ACSL	113	67	32
CMC	38	556	143
MTS		406	89
SLM		232	38
CF	420	397	145
ACSF	63	353	89
CNA	112	87	49
MAMP	38	246	68
LCGP	105	388	91
CARP	51	412	118
MPSLC	200	538	108
MLC	67	236	64
MIFA	145	168	48
LAC			

<b>Glutathione - Controlo</b>			
<b>ID</b>	<b>B0</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>
MGLM	33,5	20,4	24,2
TBSL	43,7	15,5	15,7
LMP			
FAV	32,2	22,4	55,6
MASS	52,4	26,7	26,8
TCST	27,3	20,4	16,8
MRGL			
HSPB	37,8	23,8	15,7
LRL	48,2	21,7	10,7
MDM	42,4	37,2	
FHGS	49,4	32,0	14,6
JRFM	32,8		
FNA	13,8	9,9	10,8
JSS	45,8	22,1	21,0
MAS	43,5	22,2	23,7
JCS	33,1	18,9	14,5
FPS	24,9	10,1	11,6

<b>Glutathiona - Glutamina</b>			
	34,4	14,9	49,0
RNAA	79,9	16,1	13,4
APR	28,9	16,5	15,3
ACSL	47,9	10,5	43,8
CMC	44,2	32,2	24,4
MTS	38,5	20,3	11,6
SLM	35,2	19,0	18,0
CF	47,2	25,2	12,8
ACSF	34,0		15,5
CNA	29,9		23,4
MAMP	53,0	25,7	29,8
LCGP	61,1	22,8	20,0
CARP	43,5	11,7	16,7
MPSLC	42,4	34,0	
MLC	70,5	37,5	57,8
MIFA	71,0	28,2	18,9
LAC			

<b>SOD - Controle</b>			
<b>ID</b>	<b>B0</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>
MGLM	0,23	0,29	0,29
TBSL			0,16
LMP	0,37	0,29	
FAV		0,30	0,28
MASS	0,28		0,26
TCST	0,25	0,37	0,29
MRGL	0,25	0,26	0,26
HSPB	0,37		0,12
LRL	0,23	0,22	0,37
MDM	0,24	0,25	0,29
FHGS			
JRFM	0,37	0,26	
FNA			
JSS		0,23	0,19
MAS			
JCS			
FPS			

<b>SOD Glutamina</b>			
RNAA	0,23	0,27	0,30
APR	0,14	0,26	0,25
ACSL	0,34	0,33	0,25
CMC			
MTS	0,26	0,28	0,37
SLM	0,28	0,27	0,27
CF		0,28	0,27
ACSF	0,26		0,28
CNA	0,17		0,25
MAMP	0,22	0,37	0,36
LCGP		0,29	0,27
CARP	0,22	0,27	0,21
MPSLC			
MLC	0,24	0,37	
MIFA			
LAC			

<b>HSP70 - Controle</b>			
<b>ID</b>	<b>B0</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>
MGLM	239,1	241,6	266,2
TBSL	260,8	259,9	270,4
LMP	251,1	230,4	208,1
FAV	251,1	242,5	249,4
MASS	245,1	236,5	241,6
TCST	225,4	246,8	248,5
MRGL	238,2	245,9	230,4
HSPB	243,3	242,5	257,0
LRL	264,1	233,7	200,3
MDM	247,7	241,6	209,2
FHGS			
JRFM	250,3	243,3	249,4
FNA	242,5	234,3	61,8
JSS	172,3	194,1	243,3
MAS			
JCS	241,6	250,3	232,9
FPS			

<b>HSP70 - Glutamina</b>			
RNAA	248,5	262,0	201,8
APR	259,9	224,6	242,5
ACSL	254,9	251,1	251,1
CMC	243,3	176,2	233,4
MTS	250,3	231,2	246,8
SLM	239,9	249,4	291,3
CF	247,7	253,2	241,6
ACSF	202,3	225,4	248,5
CNA	244,2	250,3	256,1
MAMP	224,0	222,6	219,4
LCGP	245,9	236,0	158,9
CARP	239,1	187,0	221,3
MPSLC	224,0	218,6	231,2
MLC	243,3	222,6	
MIFA	249,4	245,1	245,9
LAC	240,8	213,4	225,4

<b>NFkB - Controlo</b>			
<b>ID</b>	<b>B0</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>
MGLM	16,9	17,7	17,9
TBSL	17,3	17,5	17,9
LMP	17,6	12,9	13,1
FAV	16,0	16,7	15,0
MASS	17,5	17,4	17,0
TCST	16,9	16,6	15,3
MRGL	10,4	16,8	18,6
HSPB	18,0	18,5	17,4
LRL	19,0	17,0	14,3
MDM	16,9	18,0	9,6
FHGS			
JRFM	15,3	14,5	17,6
FNA	15,0	16,5	3,9
JSS		14,4	14,8
MAS			
JCS	18,0	17,0	19,6
FPS			

<b>NFkB - Glutamina</b>			
RNAA	20,7	17,8	16,3
APR	16,6	14,5	6,7
ACSL	17,2	17,2	16,1
CMC	16,3	11,9	16,3
MTS	19,6	18,3	15,8
SLM	17,5	17,7	19,1
CF	15,4	16,0	17,5
ACSF	17,0	18,5	17,2
CNA	18,3	18,2	19,6
MAMP	15,8	16,1	15,4
LCGP	17,1	18,0	10,9
CARP	17,0	14,1	12,8
MPSLC	16,1	16,3	16,2
MLC	15,2	17,0	x
MIFA	16,3	16,6	17,6
LAC			

## APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PROJETO CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PROJETO  
TÍTULO: “Efeitos da glutamina no estresse oxidativo, inflamação e função hepática em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado”.

Pesquisador Responsável: Marcos Aurélio Pessoa Barros

Orientadores: Dr. José Huygens Parente Garcia e Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa intitulado “Efeitos da glutamina no estresse oxidativo, inflamação e função hepática em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado”. Esta pesquisa será realizada no Hospital Universitário Walter Cantídio, situado à Rua Capitão Francisco Pedro, 1290. Porangabussu. Fortaleza - Ceará. Fone: (85) 3366.8146.

Este trabalho tem como objetivos estudar uma nova forma de tratamento de pessoas que tem doenças no fígado, podendo ajudar futuros pacientes que passarão pelo transplante hepático. Iremos estudar como proteger o fígado novo, recém transplantado de problemas que surgem após a operação, para com isso trazer uma melhora no momento após a operação.

O estudo é feito com dois grupos, um grupo que receberá um suplemento (glutamina) (explicado no próximo parágrafo) e um outro grupo que não receberá a glutamina, receberá apenas soro, esse grupo nós chamamos de “grupo controle”. Caso você aceite participar do estudo, você será sorteado para entrar em um dos grupos.

O grupo receptor da glutamina, receberá esse suplemento diretamente no fígado que será transplantado, que será recebido por você, podendo trazer uma melhora na atividade deste fígado e também protegê-lo da rejeição. Para isso vamos coletar sangue durante as coletas normalmente já realizadas para a cirurgia e vamos tirar pedacinhos bem pequenos do fígado (biópsias), mas só durante a cirurgia e nunca depois no momento do transplante e isto não lhe causará nenhuma dor. Estas amostras do seu sangue e do seu fígado irão fazer parte de uma pesquisa que poderá ajudar em muito não só você como outros pacientes que precisarão do transplante um dia.

### RISCOS E BENEFÍCIOS

A pesquisa não deve acarretar para você riscos além dos já presentes no procedimento técnico do transplante hepático, pois não acarretará em nenhuma mudança

no padrão técnico do procedimento cirúrgico do transplante hepático ou implicará em mudança de algum medicamento utilizado no paciente transplantado. O benefício esperado pela a pesquisa é melhorar as condições do enxerto hepático (fígado do doador a ser transplantado), que sofre danos pelo processo de isquemia (processo em que o enxerto hepático deixa de receber sangue do doador falecido) e reperfusão (processo em que o enxerto hepático volta a receber sangue quando é implantado no receptor).

Os danos da isquemia e reperfusão são comuns ao processo de transplante, as soluções de preservação minimizam estes riscos. Há uma busca constante de sempre melhorar ainda mais este processo, pois ainda existe um percentual importante de danos ao enxerto hepático por este motivo. Esperamos que a glutamina interfira reduzindo estes efeitos deletérios.

Caso você participe da pesquisa jamais sua identidade será revelada. Os resultados desta pesquisa serão divulgados publicamente, através de trabalhos científicos.

Você será acompanhado no ambulatório de transplante hepático da universidade federal do Ceará (UFC), pela a equipe de transplante hepático, cujo responsável chefe é o prof. titular da UFC Dr. Huygens Garcia.

Qualquer complicação decorrente do transplante hepático e conseqüentemente deste estudo estará sob a responsabilidade da equipe de transplante hepático da UFC. Você terá acesso previamente a todas as informações do delineamento do estudo. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), você terá direito a tratamento médico na instituição.

Esta pesquisa é realizada pelos estudantes e pesquisadores da universidade e por isso, você não deverá receber ajuda de custo, pois trata-se de pesquisa sem fins lucrativos. Não haverá nenhuma despesa para você em relação ao estudo. Você faz parte do Programa de Transplante Hepático da UFC, assim como todos os paciente candidatos a transplante hepático na UFC.

A sua participação neste estudo é voluntária. E você pode recusar-se a participar. Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem prejuízo para seu tratamento na instituição.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para o esclarecimento de eventuais dúvidas. O médico responsável será o Dr. Marcos Aurélio Pessoa Barros, que pode ser encontrado na Rua Batista de Oliveira, 1000/401 Fortaleza, CE. Tel: (85) 99867813.

“Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Capitão Francisco Pedro, 1290, Rodolfo Teófilo; fone: (85) 3366-8589 – E-mail: [cephuwc@huwc.ufc.br](mailto:cephuwc@huwc.ufc.br)”

#### CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito desta pesquisa que li ou que foram lidas para mim. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, e as atividades a serem realizadas, seus riscos e benefícios, assim como as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação não é remunerada e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

**ANEXO A – Parecer do Conselho de Ética**

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
WALTER CANTÍDIO/  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Efeitos da glutamina no estresse oxidativo, inflamação e função hepática em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado

**Pesquisador:** Marcos Aurélio Pessoa Barros

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:**07743712.5.0000.5045

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Walter Cantídio/ Universidade Federal do Ceará/

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 216.272

**Data da Relatoria:** 11/03/2013

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um projeto de tese de doutorado. Ensaio clínico randomizado e controlado. A população será de 40 pacientes que serão submetidos a transplante hepático no HUWC no ano de 2013. Serão selecionados aleatoriamente 20 pacientes para um grupo controle (procedimento cirúrgico padrão) e 20 pacientes para um grupo teste (fígados submetidos à administração do nutracêutico glutamina). Será realizada avaliação molecular das amostras. Critérios de inclusão: presença de doença hepática terminal, MELD (Model for End-Stage Liver Disease) maior que 11.

Critérios de exclusão: pacientes acometidos por hepatite fulminante.

**Objetivo da Pesquisa:**

Geral: Avaliar os efeitos da glutamina no estresse oxidativo, inflamação e função hepática em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado.

Específicos: Avaliar efeitos da glutamina na disfunção hepática após o transplante; Avaliar efeitos da glutamina na sobrevida do enxerto.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

De acordo com o pesquisador: "A administração de Glutamina em doses "nutracêuticas" não oferece riscos adicionais ao paciente submetido ao transplante hepático.

O pesquisador apresenta como benefício: O uso da 1-alanil-glutamina pode melhorar os parâmetros de resposta inflamatória e de estresse oxidativo. No entanto, esse é o objetivo da pesquisa, buscar evidências dos efeitos positivos da glutamina no transplante hepático.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo que visa avaliar os efeitos da glutamina no estresse oxidativo, inflamação e função hepática em enxertos de pacientes submetidos ao transplante de fígado. A metodologia é compatível com os objetivos a serem atendidos e o título é claro e adequado ao que vai ser abordado. É de extrema relevância para o tratamento cirúrgico dos pacientes submetidos a transplante hepático buscando a melhoria da sobrevida e redução das complicações inerentes a este tratamento. Necessita de alguns ajustes metodológicos e esclarecimentos de acordo com a resolução 196/96, que não invalidam ou diminuem a qualidade do projeto.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos de apresentação obrigatória foram adequadamente apresentados.

**Recomendações:**

Inserir referências recentes de pesquisas preliminares que avaliam os efeitos da glutamina em transplantes.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Tendo atendido às pendências postas, o projeto está adequado para ser iniciado

**Situação do Parecer:** Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O pesquisador deverá apresentar relatório final até 30 dias de conclusão do projeto.

FORTALEZA, 11 de Março de 2013

**Assinador por:**  
**Maria de Fatima de Souza**

**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Capitão Francisco Pedro, nº 1290

**Bairro:** Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-370

**UF:** CE **Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366.-8613 **Fax:** (85)3281.-4961 **E-mail:** cephuwc@huwc.ufc.br