

Avaliação da proteína acídica fibrilar glial como marcador da injúria por isquemia-reperfusão hepática

Evaluation of glial fibrillar acidic protein as a marker of hepatic ischemia-reperfusion

GIULIANO ANCELMO BENTO, ACBC-RJ¹; VIVIANI REIS DA CUNHA²; RODRIGO MARTINEZ, TCBC-RJ³; FLÁVIA CARVALHO ALCANTARA GOMES⁴; ALBERTO SCHANAIDER, TCBC-RJ⁵

R E S U M O

Objetivo: Avaliar a expressão da Proteína Acídica Fibrilar Glial após a injúria por isquemia-reperfusão. **Métodos:** vinte e quatro ratos foram distribuídos em quatro grupos: Controle, submetidos à anestesia e biópsia hepática; Simulação, injeção de heparina através da veia cava e dissecação do pedículo hepático superior, biópsia após 24 horas; Isquemia 30 minutos, mesmo procedimento do grupo Simulação, acrescido de clampeamento do pedículo hepático superior por 30 minutos; Isquemia 90 minutos, mesmo procedimento do grupo Isquemia 30 minutos, porém com período de clampeamento de 90 minutos. Após 24 horas de observação, os animais foram submetidos à laparotomia e seus fígados avaliados macroscopicamente, microscopicamente, por coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) e submetidos à análise da expressão da GFAP por Western Blotting. **Resultados:** Não se observou diferença no aspecto macroscópico dos fígados entre os diferentes grupos experimentais, tendo todos evidenciado morfologia normal. A análise por HE não evidenciou diferenças significativas, no que diz respeito à morfologia lobular. Por outro lado, nos grupos isquemia, foram encontrados infiltrados neutrofilicos e pequenas áreas de necrose. A expressão de GFAP foi semelhante em todos os grupos, seja qualitativamente quanto quantitativamente. **Conclusão:** A expressão da Proteína Acídica Fibrilar Glial não se alterou em nosso modelo de isquemia-reperfusão.

Descritores: Isquemia. Traumatismo por reperfusão. Fígado. Proteína glial fibrilar ácida. Imunoistoquímica.

INTRODUÇÃO

A avaliação histológica dos enxertos hepáticos utilizados no transplante hepático é um problema desafiador na medicina, devido à falta de marcadores preditores de malfuncionamento¹. Atualmente, o único marcador histológico que pode ser utilizado é a esteatose hepática, cuja acurácia é, todavia, baixa para prever a qualidade do órgão². Por essa razão, a avaliação desses enxertos é baseada majoritariamente em dados clínicos dos doadores, tais como idade e parâmetros hemodinâmicos, sendo esses também pouco acurados³. Uma das modificações propostas nesse campo é a caracterização de outros marcadores que poderiam ajudar nessa avaliação. Seguramente, as moléculas candidatas seriam as que têm a sua expressão modificada frente aos diferentes tipos de injúria hepática.

A Proteína Acídica Fibrilar Glial (PAFG) (do inglês, *Glial Fibrillary Acidic Protein*, GFAP) é uma molécula

de citoesqueleto altamente expressa no sistema nervoso central, que tem sua expressão aumentada frente a lesões isquêmicas, como é o caso da cicatriz pós-infarto cerebral⁴⁻⁶. No parênquima hepático, a PAFG é expressa nas células perissinusoidais⁷. Após diferentes formas de injúria hepática, a expressão desse marcador está aumentada, o que está relacionado à modificação fenotípica das células perissinusoidais, que, após um período de injúria persistente (por exemplo, semanas após a exposição ao agente hepatotóxico tetracloreto de carbono ou após a ligadura do ducto colédoco), são finalmente diferenciadas em células miofibroblásticas⁸⁻¹⁰. A expressão desse marcador está também alterada em outros tipos de doenças hepáticas, como já foi descrito na recorrência da infecção pelo vírus da hepatite C após o transplante hepático¹¹.

Considerando-se que a expressão desse marcador está modificada em diferentes modalidades de injúria hepática, e também o fato de que a isquemia é um tipo muito comum de agressão encontrado nos enxertos

Trabalho realizado no Centro de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro e Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

1. Médico, Cirurgião Geral e Mestre em Ciências Cirúrgicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFRJ; 2. Estudante de Graduação do Programa de Iniciação Científica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 3. Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 4. Professora Titular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 5. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

para transplante¹², neste trabalho, buscamos investigar se a expressão da PAFG poderia estar modificada frente à injúria por isquemia-reperfusão do fígado.

MÉTODOS

Todos os experimentos seguiram as normas para o cuidado e uso de animais de laboratório. Nosso protocolo experimental foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais de Laboratório em Pesquisa, Ensino e Extensão (CEUA), registrado sob o número 79/09.

Vinte e quatro ratos da raça Wistar pesando cerca de 220g do biotério de ratos do Centro de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia Faculdade de Medicina da UFRJ foram distribuídos em quatro grupos, cada um composto por seis ratos.

Os animais do grupo controle foram submetidos à anestesia profunda com quetamina (100mg/kg) e xylasina (10mg/kg) e submetidos à laparotomia. Após a retirada de fragmentos de tecidos cerebelar e hepático, representativas, no último caso, dos segmentos estudados nos outros grupos, os animais foram mortos, os fragmentos submetidos à análise histológica por meio da coloração de hematoxilina-eosina e à análise da expressão de PAFG por meio da técnica de Western Blotting.

No grupo simulação, os animais foram anestesiados, submetidos à laparotomia, com isolamento de seus pedículos hepáticos com uma fita (Figura 1A); procedeu-se à injeção de heparina (1000U/kg) na veia cava (Figura 1B). Logo após, a parede abdominal foi suturada e os animais mantidos sob regime de analgesia regular por 24 horas. Após esse período, os animais foram mortos e fragmentos hepáticos representativos dos segmentos estudados foram recolhidas para análise por Western Blotting. Foi realizada a perfusão com 10ml de salina utilizando uma bomba de infusão a 5ml/minuto, seguida de perfusão com paraformaldeído a 4% a 4°C, diluído em tampão fosfato de sódio, pH 7,4 por 15 minutos.

Nos ratos dos grupos "isquemia de 30 minutos" e "isquemia 90 minutos", o mesmo protocolo cirúrgico do grupo simulação foi aplicado, mas um clampeamento seletivo do pedículo hepático superior (Figura 1C), compreendendo os lobos lateral esquerdo e mediano, foi aplicado por 30 ou por 90 minutos (Figuras 1D e E), seguido da perfusão (Figura 1F) e síntese da parede abdominal. Os animais foram mantidos em regime de analgesia regular e após 24 horas foram mortos e obtidos fragmentos de tecido hepático representativas dos segmentos estudados para a realização do Western Blotting para PAFG. Os animais foram, então, perfundidos de forma semelhante ao grupo simulação, e fragmentos de tecido hepático dos segmentos representativos foram obtidas para análise histológica.

As biópsias hepáticas foram conservadas em paraformaldeído a 4% por 24 horas e, então, submetidas à desidratação seriada em sacarose a 10, 20 e 30% para

crioproteção. Após isso, blocos de tecido foram imersos em TissueTek® e congelados a -20°C. Cortes congelados de 12µm foram obtidos e, então, montados sobre lâminulas, que foram então submetidas à secagem em vapor de formol por uma hora.

Para a coloração por hematoxilina-eosina, os cortes foram desidratados em álcool absoluto e reidratados em água. A seguir foram imersos em tintura de hematoxilina por quatro minutos, lavados com água, diferenciados em álcool 70% e corados em eosina a 0,01% por cinco segundos, imersos em etanol a 95%, desidratados com etanol absoluto e submetidos à lavagens em xilenos por cinco minutos.

A expressão da análise proteica foi feita de acordo com o protocolo de Sampaio *et al.*¹³. As amostras de tecido hepático foram lisadas em tampão de carregamento (100mM Tris-Cl [pH 6,8]; SDS 4%; azul de bromofenol 0,2%; glicerol a 20%; 200mM de ditiotreitol DTT) e fervidas por cinco minutos antes de seu carregamento em gel. A concentração de proteínas foi determinada utilizando-se o kit BCA-. Dez microgramas de proteína foram aplicados em cada situação analisada e submetidos à eletroforese em um mini gel de SDS-PAGE a 12%, seguidas de transferência elétrica para uma membrana de PVDF por uma hora. As membranas foram bloqueadas em leite-PBS a 5% e anticorpos primários foram adicionados por 24 horas a 4°C, seguidos pela incubação por uma hora à temperatura ambiente com os anticorpos secundários conjugados à peroxidase. As proteínas foram reveladas usando-se o sistema de detecção por quimioluminescência. Os seguintes anticorpos foram utilizados: anti-GFAP feito em coelho e IgG anticoelho feito em cabra.

As densitometrias das bandas foram medidas com o auxílio do programa Image J (National Institutes of Health, USA). Os valores foram computados em uma tabela do programa GraphPad Prism 4.0. O teste de ANOVA fator único foi aplicado. Foi utilizado o intervalo de confiança de 95% e o valor de p menor que 0,05 considerado como significativamente estatístico.

RESULTADOS

Como evidenciado na figura 1, os fígados submetidos aos insultos isquêmicos não evidenciaram nenhum tipo de alterações em sua estrutura microscópica, apresentando bordas finas e superfícies regulares, exatamente como os dos grupos controle e simulação. Esses resultados sugerem que a avaliação macroscópica desses enxertos, considerada um dos pais importantes parâmetros utilizados durante o processo de captação¹², não é capaz de identificar de forma acurada os fígados submetidos previamente a um insulto isquêmico.

Cortes histológicos submetidos à coloração pela hematoxilina-eosina representativos das diferentes condições experimentais foram avaliados na sua estrutura. To-

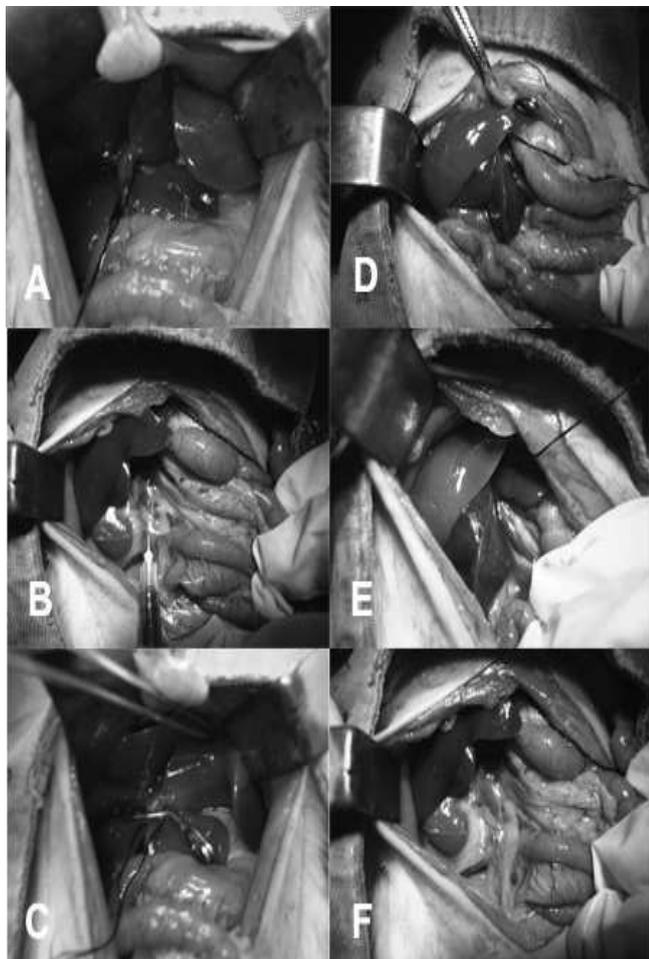


Figura 1 - Procedimento cirúrgico. Pedículos superiores isolados (A). Foi injetada heparina (1000U/Kg) na veia cava (B). Clampamento do pedículo hepático superior (C). Isquemia dos lobos medianos por 30 minutos (D) e 90 minutos (E). Foi verificada a reperfusão homogênea após a liberação dos clampes (F).

dos os cortes avaliados demonstraram o padrão lobular típico descrito nas espécies mamíferas¹⁴ (Figura 2A). Mais especificamente, as áreas portais localizadas ao longo das vênulas centrais foram claramente identificadas e evidenciaram os típicos elementos da tríade portal. Infiltrados de neutrófilos e pequenas áreas de necrose foram encontrados nos grupos submetidos à isquemia, como já descrito previamente¹⁵ (Figura 2B). Por outro lado, a esteatose hepática, seja do tipo micro ou macroesteatose, não foi detectada em nenhum dos cortes analisados.

Como evidenciado na figura 3, a análise por Western Blotting dos grupos controle e simulação evidenciou uma banda de 50kDa, similar à detectada em biópsias de tecidos cerebelares dos mesmos animais (Figura 3A). Uma segunda banda de aproximadamente 45kDa foi também detectada, representando o produto de degradação proteica ou de *splicing* alternativo do gene de GFAP. Quando as amostras dos fígados submetidos à isquemia por 30 e por 90 minutos foram analisadas, um padrão similar de expressão foi também detectado (Figura 3B). A análise por densitometria não detectou diferenças significativas na expressão dessa proteína entre as diferentes condições experimentais (Figura 3C).

DISCUSSÃO

A isquemia hepática é uma das formas mais comuns de injúria encontrada em doadores cadavéricos de fígado¹². Isso é mais comumente uma consequência do uso de doses elevadas de drogas vasopressoras ou dos episódios de parada cardiorrespiratória. Nessas condições, a decisão sobre se utilizar ou não enxertos é sempre vista como um dilema, uma vez que não há um limite seguro definido para as doses de drogas vasopressoras. Sendo assim, muitos parâmetros clínicos e laboratoriais acabam sen-

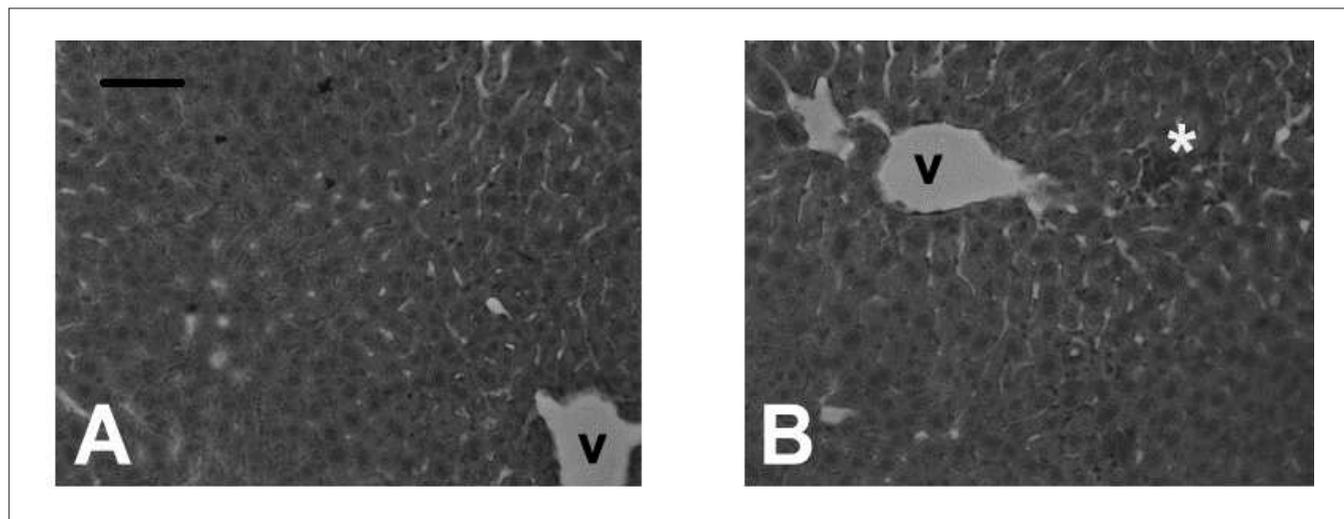


Figura 2 - Avaliação histológica dos grupos controle (A) e isquemia por 90 minutos (B), evidenciando arquitetura lobular normal. O asterisco em B evidencia agregado neutrofílico. V: Veia centrolobular. Barra de calibração: 100µm.

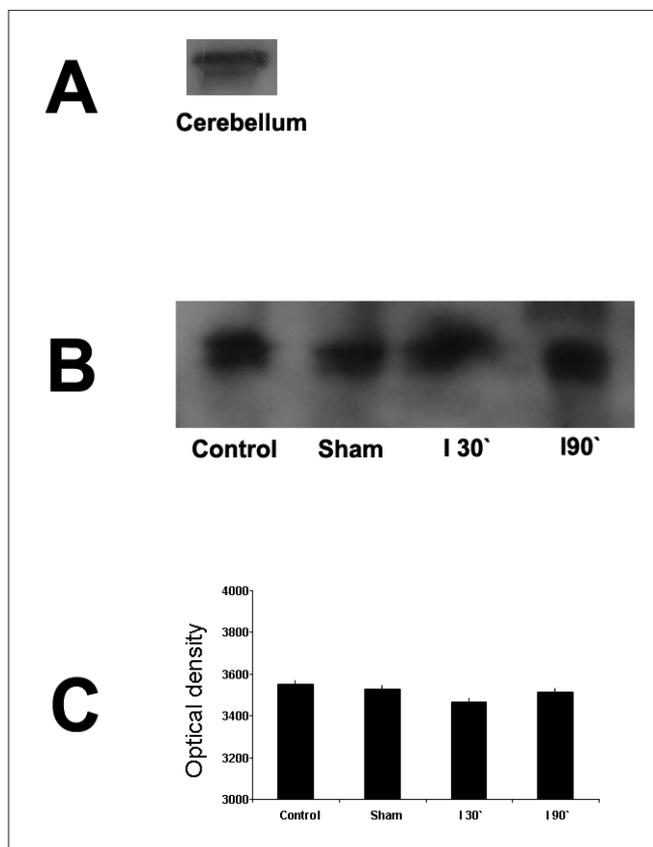


Figura 3 - Análise por Western Blotting do tecido cerebelar (A) evidenciando a banda típica de 50kDa correspondente ao filamento de GFAP. Uma segunda banda de 45kDa também pôde ser percebida. B: Western Blotting evidenciando as diferentes condições experimentais. C: Análise densitométrica das bandas.

do considerados na análise final³. Muitos cirurgiões consideram o aspecto macroscópico do fígado como um dos parâmetros mais importantes a ser considerado¹².

No nosso experimento o pedículo hepático superior foi clampeado por dois diferentes períodos de tempo, com o objetivo de se criar uma isquemia que mimetizasse as diferentes formas de injúria previamente descritas. Essa manobra é comumente realizada durante a cirurgia hepática como uma forma de se controlar o sangramento durante ressecções de parênquima hepático, e é realizada ao custo de se causar algum grau de disfunção hepática. O período de 30 minutos é considerado "seguro", uma vez que raramente cursa com disfunção hepática grave, à exceção de quando realizado em fígados com cirrose ou esteatose. Já o período de 90 minutos é considerado muito menos seguro e dificilmente é aplicado no cenário clínico, uma vez que quase sempre resulta em disfunção hepática grave¹⁶. A opção por se realizar o clampeamento seletivo foi tomada porque, em ratos, o clampeamento total do pedículo é muito mal tolerado devido à instalação rápida de congestão mesentérica, seguida de infarto¹⁷. Essa abordagem permitiu adicionalmente comparar os parâmetros analisados não apenas com os

grupos controle, mas também com os segmentos não submetidos à isquemia dos mesmos animais.

O aspecto macroscópico dos fígados analisados 24 horas após a injúria isquêmica não foi alterado. Foram observados os aspectos comumente utilizados pelos cirurgiões captadores de fígado, tais como a cor, a borda e a regularidade da superfície dos órgãos¹². Não foram encontradas diferenças entre os grupos, sendo que todos os fígados analisados apresentavam aspectos compatíveis com órgãos saudáveis, e, portanto, de enxertos ditos ideais, tais como bordas finas, coloração normal e superfície regular. Esses resultados falam contra o argumento empírico de que o aspecto macroscópico do fígado é um parâmetro bastante acurado a se levar em conta na decisão sobre se utilizar ou não o órgão, já que é sabido que órgãos submetidos previamente a uma injúria isquêmica prolongada trazem consigo risco elevado de disfunção³.

Uma segunda forma de análise foi feita por meio da avaliação histológica dos tecidos hepáticos, utilizando-se a abordagem mais comum na prática clínica, a coloração por hematoxilina-eosina¹². Nessas condições, infiltrados neutrofilicos e pequenas áreas de necrose foram encontrados nos grupos isquemia. Nossos resultados estão de acordo com o trabalho de Jaeschke *et al.*, descreveram a presença de infiltrado neutrofilico e necrose de hepatócitos após a injúria por isquemia-reperfusão¹⁷.

Na prática clínica geral, a esteatose hepática é certamente o parâmetro clínico mais empregado durante a avaliação histológica dos enxertos para transplante hepático, e a maioria dos autores concorda que enxertos evidenciando níveis de esteatose superiores a 30% são considerados de risco². A esteatose pode ser uma consequência de diversas formas de agressão hepática, tais como a obesidade, uso prolongado de nutrição parenteral, abuso de álcool e tratamento com drogas quimioterápicas¹⁸. Não existem relatos prévios descrevendo o desenvolvimento de esteatose hepática após a injúria por isquemia-reperfusão. Nossos resultados reforçam esse conhecimento, uma vez que não foi detectada a presença de esteatose em nenhuma das condições experimentais, e, sendo assim, concluímos que outros parâmetros preditivos de enxertos de alto risco devem ser também avaliados.

Foram realizados experimentos objetivando avaliar se a expressão de GFAP poderia estar modificada após a injúria isquêmica. Esse filamento foi escolhido como uma molécula candidata essencialmente devido ao fato de ter a sua expressão modificada em muitos modelos de injúria hepática, tais como a ligadura do ducto colédoco, a injeção de tetracloreto de carbono e a infecção pelo vírus da hepatite C, e está relacionado à modificação fenotípica das células perissinusoidais, durante a sua transformação em células miofibroblásticas^{8,19,20}. Desta forma, nós analisamos, por meio da técnica de Western Blotting, amostras representativas de tecidos hepáticos das diferentes condições experimentais. Não foram detectadas diferenças no padrão de expressão dessa proteína após a isquemia he-

pática. A técnica de Western Blotting foi escolhida porque o nosso principal objetivo foi o de desenvolver um método alternativo que fornecesse dados adicionais à análise histológica e prover um resultado mais rápido, tendo assim uma aplicação na prática clínica, onde o curto período de isquemia tolerado por esses enxertos não permite que um método mais demorado, como a imunistoquímica, seja aplicado. Nossos resultados, todavia, não evidenciaram diferenças na expressão dessa proteína após o insulto isquêmico. Da mesma forma, não foram encontradas diferenças no padrão de degradação proteica. Tais achados, por outro lado, não excluem que modificações mais tardias na expressão dessa molécula possam ocorrer após a injúria por isquemia-reperfusão. Por exemplo, uma alteração na expressão desse filamento só é detectável em três a oito semanas após a injeção do tetracloreto de carbono e quatro semanas após a ligadura do ducto colédoco^{19,20}. Considerando-se esses dados, uma modificação da expressão desse marcador em nosso modelo somente poderia ser excluída após a realização de outros ensaios, que envolvessem, por exemplo, uma injúria isquêmica mais prolongada. Do ponto de vista prático, o estabelecimento de tal injúria seria tecnicamente complexo, e envolveria abordagens como a indução de estenose arterial e portal ou a manutenção dos animais em doses elevadas de drogas vasoativas. Outra opção seria a de se empregar a análise da expressão gênica de GFAP, por meio de técnicas como o *Reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR), a hibridização *in situ* ou animais transgênicos²¹, porém, a

aplicabilidade prática advinda desse tipo de experimentos seria provavelmente muito menor.

Nossos resultados, embora negativos, trazem consigo grande relevância, uma vez que eles representam alguns dos poucos esforços já descritos com o objetivo de se detectar marcadores moleculares de enxertos de alto risco^{22,23}. Nossa extensa busca pela literatura detectou poucos trabalhos com esse objetivo. É notável que alguns autores tenham empregado técnicas mais sofisticadas com esse objetivo. Ray *et al.* empregaram a análise por microssatélites de biópsias pré-reperfusão de enxertos pulmonares utilizados para transplantes e detectaram uma expressão alterada de 24 genes em órgãos que vieram a apresentar disfunção pós-transplante²². A maioria desses genes estava relacionada à vias de sinalização, e são, desta forma, traduzidos em proteínas que têm uma meia-vida muito mais curta, o que faz com que o uso prático desses marcadores como ferramentas diagnósticas na prática clínica seja pouco provável. Temos a expectativa de que os resultados obtidos por Ray *et al.* assim como os nossos, encorajem outros pesquisadores a direcionarem seus esforços para uma área tão obscura e pouco explorada da ciência dos transplantes, uma vez que a descoberta de um marcador fidedigno de um preditor de disfunção orgânica e, de forma mais otimista, o desenvolvimento de um método diagnóstico acurado, seguramente revolucionaria a prática nesse campo. Concluímos assim, que PFAG não apresentou modificações na sua expressão frente à injúria por isquemia-reperfusão produzida no nosso modelo experimental.

A B S T R A C T

Objective: To evaluate the expression of Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) after ischemia-reperfusion injury. **Methods:** twenty four rats were divided into four groups: Control, submitted to anesthesia and liver biopsy; Sham, receiving injection of heparin through the vena cava and hepatic pedicle dissection, with liver biopsy after 24 hours; Ischemia-30, the same as Sham group, plus hepatic pedicle clamping for 30 minutes; and Ischemia-90, the same procedure of Ischemia-30 group, but with clamping period of 90 minutes. After 24 hours of observation, the animals underwent laparotomy and we evaluated their livers macroscopically, microscopically by hematoxylin-eosin (HE) and analyzed the expression of GFAP by Western Blotting. **Results:** There was no difference in the gross appearance of the livers between the different experimental groups, all having demonstrated normal morphology. HE analysis showed no significant differences with respect to lobule morphology. On the other hand, in the ischemia groups we observed neutrophilic infiltrates and small areas of necrosis. GFAP expression was similar in all groups, either qualitatively and quantitatively. **Conclusion:** The expression of Glial Fibrillary Acidic Protein did not change in our model of ischemia-reperfusion.

Key words: Ischemia. Reperfusion injury. Liver. Glial fibrillary acidic protein. Immunohistochemistry.

REFERÊNCIAS

1. Uemura T, Randall HB, Sanchez EQ, Ikegami T, Narasimhan G, McKenna GJ, et al. Liver retransplantation for primary nonfunction: analysis of a 20-year single-center experience. *Liver Transpl.* 2007;13(2):227-33.
2. Doyle MB, Vachharajani N, Wellen JR, Anderson CD, Lowell JA, Shenoy S, et al. Short-and long-term outcomes after steatotic liver transplantation. *Arch Surgery.* 2010;145(7):653-60.
3. Gastaca M. Extended criteria donors in liver transplantation: adapting donor and quality and recipient. *Transplant Proc.* 2009;41(3):975-9.
4. Bignami A, Eng LF, Dahl D, Uyeda CT. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. *Brain Res.* 1972;43(2):429-35.
5. Petito CK, Morgello S, Felix JC, Lesser ML. The two patterns of reactive astrocytosis in postischemic rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1990;10(6):850-9.
6. Yasuda Y, Tateishi N, Shimoda T, Satoh S, Ogitani E, Fujita S. Relationship between S100beta and GFAP expression in astrocytes during infarction and glial scar formation after mild transient ischemia. *Brain Res.* 2004;1021(1):20-31.
7. Baratta JL, Ngo A, Lopez B, Kasabwalla N, Longmuir KJ, Robertson RT. Cellular organization of normal mouse liver: a histological,

- quantitative immunocytochemical, and fine structural analysis. *Histochem Cell Biol.* 2009;131(6):713-26.
8. Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22 Suppl 1:S79-84.
 9. Gressner AM. The cell biology of liver fibrogenesis – an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell Tissue Res.* 1998;292(3):447-52.
 10. Pinzani M, Gentilini P. Biology of hepatic stellate cells and their possible relevance in the pathogenesis of portal hypertension in cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 1999;19(4):397-410.
 11. Carotti S, Morini S, Corradini SG, Burza MA, Molinaro A, Carpino G, et al. Glial fibrillary acidic protein as an early marker of hepatic stellate cell activation in chronic and posttransplant recurrent hepatitis C. *Liver Transpl.* 2008;14(6):806-14.
 12. Busuttill RW, Tanaka K. The utility of marginal donors in liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003;9(7):651-63.
 13. de Sampaio e Spohr TC, Martinez R, da Silva EF, Neto VM, Gomes FC. Neuro-glia interaction effects on GFAP gene: a novel role for transforming growth factor-beta1. *Eur J Neurosci.* 2002;16(11):2059-69.
 14. Loud AV. A quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells. *J Cell Biol.* 1968;37(1):27-46.
 15. Jaeschke H. Vascular oxidant stress and hepatic ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Res Commun.* 1991;12-13 Pt 2:737-43.
 16. Belghiti J, Noun R, Malafosse R, Jagot P, Sauvenet A, Pierangeli F, et al. Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study. *Ann Surg.* 1999;229(3):369-75.
 17. Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J.* 1990;4(15):3355-9.
 18. Angele MK, Rentsch M, Hartl WH, Wittmann B, Graeb C, Jauch KW, et al. Effect of graft steatosis in liver function and organ survival after liver transplantation. *Am J Surg.* 2008;195(2):214-20.
 19. Niki T, De Bleser PJ, Xu G, Van Den Berg K, Wisse E, Geerts A. Comparison of glial fibrillary acidic protein and desmin staining in normal and CCl4-induced fibrotic rat livers. *Hepatology.* 1996;23(6):1538-45.
 20. Cassiman D, Libberecht L, Desmet V, Deneef C, Roskams T. Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers. *J Hepatol.* 2002;36(2):200-9.
 21. Gomes FC, Maia CG, de Menezes JR, Neto VM. Cerebellar astrocytes treated by thyroid hormone modulate neuronal proliferation. *Glia.* 1999;25(3):247-55.
 22. Ray M, Dharmarajan S, Freudenberg J, Zhang W, Patterson GA. Expression profiling of human donor lungs to understand primary graft dysfunction after lung transplantation. *Am J Transplant.* 2007;7(10):2396-405.
 23. Boutros T, Nantel A, Emadali A, Tzimas G, Conzen S, Chevet E, et al. The MAP Kinase phosphatase-1 MKP-1/DUSP1 is a regulator of human liver response to transplantation. *Am J Transplant.* 2008;8(12):2558-68.

Recebido em 05/07/2012

Aceito para publicação em 19/08/2012

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, FAPERJ.

Como citar este artigo:

Bento GA, Cunha VR, Martinez R, Gomes FCA, Schanaider A. Avaliação da proteína ácida fibrilar glial como marcador da injúria por isquemia-reperfusão hepática. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2013;40(3). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

Rodrigo Martinez

E-mail: rodrigomartinez@hucff.ufrj.br