

ALTERAÇÕES METABÓLICAS INDUZIDAS POR ISQUEMIA HEPÁTICA NORMOTÉRMICA EXPERIMENTAL E O EFEITO HEPATOPROTETOR DA CICLOSPORINA

José Huygens Parente GARCIA¹, Gustavo Rego COELHO², Ivian Teixeira de SOUSA², Rafael Pontes de SIQUEIRA² e Paulo Roberto Leitão de VASCONCELOS¹

RESUMO – *Racional* – Transplante de fígado é inevitavelmente associado com períodos de isquemia completa. No entanto, o tempo de oclusão do pedículo hepático é limitado pelas conseqüências da injúria pós-isquêmica do fígado. *Objetivo* – Determinar as principais alterações metabólicas ocasionadas pela isquemia hepática e a provável ação hepatoprotetora da ciclosporina. *Métodos* – Isquemia hepática normotérmica por 60 minutos foi induzida em ratos. Em seguida, as alterações com o tempo (0, 1, 6, 24 horas) das concentrações sanguíneas e hepáticas de lactato, piruvato, glicose, corpos cetônicos e razão acetoacetato/3-hidroxiacetato, bem como o estado redox citoplasmático e mitocondrial do tecido hepático foram determinados. Outro grupo de animais foi pré-tratado com ciclosporina (10 mg/kg), sendo estudadas as alterações metabólicas no tempo 1 hora após revascularização hepática. *Resultados* – A isquemia hepática causou elevação da concentração de lactato no fígado, sugerindo que pronunciado grau de metabolismo anaeróbico ocorreu durante o período de isquemia. Isquemia hepática acarretou ainda queda da concentração e da razão dos corpos cetônicos (acetoacetato/3-hidroxiacetato) no sangue arterial no tempo de 1 hora após revascularização. Tal fato reflete que a injúria isquêmica do fígado interfere na cetogênese. *Conclusão* – O tratamento com ciclosporina causa elevação das concentrações dos corpos cetônicos e da razão acetoacetato/3-hidroxiacetato no sangue arterial após 1 hora de reperfusão hepática, sugerindo que esta droga acelera a cetogênese e, conseqüentemente, a recuperação da lesão isquêmica do fígado.

DESCRIPTORES – Fígado. Hepatectomia. Isquemia. Ciclosporina. Ratos.

INTRODUÇÃO

O transplante de fígado é atualmente uma realidade. Um dos problemas ainda presente é o período de isquemia completa, que pode acarretar lesões irreversíveis neste órgão. O fígado humano pode suportar até 60 minutos de isquemia, sem aumento das complicações pós-operatórias, falência hepática ou mortalidade^(4,7). Apesar desses aspectos, o período máximo de segurança em que o suprimento sanguíneo para o fígado pode ser interrompido em condições normais de temperatura, permanece desconhecido.

Em 1976, a ciclosporina, um poderoso agente imunossupressor, foi desenvolvida por Borel e introduzida na prática de transplante renal por CALNE et al.⁽²⁾. Estudos experimentais demonstraram que o tratamento com ciclosporina tinha efeito protetor na reperfusão de fígados submetidos a isquemia normotérmica⁽¹³⁾.

Atualmente, todos os métodos eficazes para preservação de órgãos para transplante baseiam-se na redução da temperatura como principal elemento protetor. Logo que o órgão fica isquêmico, seu suprimento de metabólitos cessa, podendo ocasionar lesões irreversíveis. Sabe-se que o simples

¹ Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará; ² Hospital Universitário Walter Cantídio, Fortaleza, CE. Endereço para correspondência: Dr. José Huygens P. Garcia – Programa de Pós-Graduação em Cirurgia – Rua Prof. Costa Mendes, 1608 – Rodolfo Teófilo – 60416-160 – Fortaleza, CE. E-mail: huygens@secrel.com.br

resfriamento tem sido bem-sucedido no sentido de reduzir esse dano, porém comporta muitas limitações. Portanto, caso as alterações metabólicas induzidas pela isquemia fossem mais detalhadamente estudadas, provavelmente seria possível intervir de forma ativa e conveniente nestes processos, prolongando a viabilidade hepática. Conseqüentemente, haveria melhora nos resultados do transplante hepático e de outros órgãos.

No presente estudo, foram determinadas as alterações nas concentrações hepáticas e sanguíneas de lactato, piruvato, glicose, corpos cetônicos, razão acetoacetato/3-hidroxibutirato e estado redox hepático citoplasmático e mitocondrial após 60 minutos de isquemia hepática normotérmica em ratos, assim como a provável ação hepatoprotetora da ciclosporina. Assim sendo, foram definidos alguns aspectos do metabolismo hepático, contribuindo para a prevenção e tratamento da lesão isquêmica do fígado.

MÉTODOS

Foram utilizados 60 ratos albinos (*Rattus norvegicus*), variedade Wistar, machos, com peso médio de 300 g, provenientes do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

Os animais foram submetidos a anestesia inalatória com éter dietílico. Em seguida, foi realizada uma laparotomia mediana. O pedículo hepático, composto pela veia porta, artéria hepática e via biliar, foi isolado acima dos lobos caudado e lateral direito, sendo posteriormente ocluído com pinça vascular (Figura 1). A oclusão completa da tríade portal no local proposto é confirmada no transoperatório pela presença de palidez importante nos lobos mediano e lateral esquerdo, ao mesmo tempo em que os lobos inferiores não sujeitos à isquemia (caudado e lateral direito) preservam a coloração habitual. Após 60 minutos de pinçamento da tríade portal, que corresponde ao mesmo tempo de isquemia

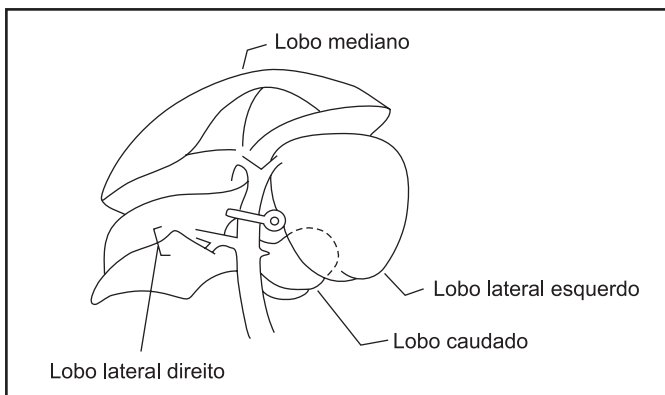


FIGURA 1 – Pinçamento seletivo do pedículo vascular

hepática, os ratos foram novamente anestesiados e a ferida abdominal reaberta. Mais uma vez se confirma a eficácia da oclusão vascular pela isquemia dos lobos superiores. A pinça vascular foi retirada, observando-se a reperfusão dos lobos isquêmicos. Os lobos hepáticos não sujeitos à isquemia, foram, então, submetidos a ligadura de seus pedículos vasculares e ressecados (Figura 2). Desta forma, os animais permaneceram vivos somente com os lobos sujeitos à isquemia, permitindo estudar as alterações metabólicas induzidas pela isquemia, configurando o grupo isquêmico. Os animais do grupo-controle foram submetidos a ressecção dos lobos hepáticos inferiores sem oclusão vascular, de tal forma que permaneceram com a mesma quantidade de tecido hepático do grupo isquêmico.

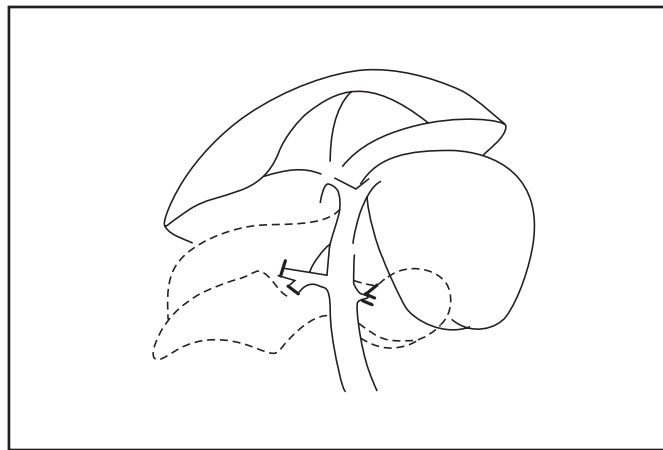


FIGURA 2 – Hepatectomia dos lobos não-isquemiados

Os animais foram divididos em 4 grupos de 12 unidades (6 controles e 6 isquêmicos). Todos os ratos do grupo isquêmico foram submetidos a 60 minutos de isquemia hepática normotérmica. Os animais do grupo-controle foram estudados nos mesmos tempos, porém sem isquemia hepática. O grupo 1 foi estudado no tempo 0 hora (isquêmico (I): imediatamente após 60 minutos de isquemia hepática; controle (C): após hepatectomia); o grupo 2 no tempo 1 hora (I: 1 hora após 60 minutos de isquemia hepática; C: 1 hora após hepatectomia); o grupo 3 no tempo 6 horas (I: 6 horas após 60 minutos de isquemia hepática; C: 6 horas após hepatectomia) e o grupo 4 no tempo 24 horas (I: 24 horas após 60 minutos de isquemia hepática; C: 24 horas após hepatectomia). Um quinto grupo foi tratado com administração intraperitoneal de ciclosporina (10 mg/kg/dia), por 4 dias antes da indução da isquemia hepática normotérmica).

Após serem anestesiados com éter e relaparotomizados, os ratos tiveram o sangue arterial colhido através de punção da aorta abdominal (1 mL). Em seguida, o fígado foi removido, imediatamente prensado e mergulhado em nitrogênio líquido a cerca de 190 graus centígrados negativos nos tempos 0, 1, 6 e 24 horas. Tanto o tecido hepático, como o sangue arterial, foram submetidos a análise, por métodos enzimáticos, para determinação dos metabólitos: piruvato, acetoacetato, lactato, hidroxibutirato, glicose.

Os resultados foram expressos como média + EPM, acompanhada pelo número de observações (n). A significância estatística foi calculada de acordo com o teste *t* de Student.

RESULTADOS

Na Tabela 1 são encontradas as alterações metabólicas das concentrações de lactato, piruvato, glicose, corpos cetônicos, razão acetoacetato/hidroxibutirato, estado redox mitocondrial e citoplasmático no fígado (µmol/g). No tempo 0 hora (grupo 1), houve aumento significativo (**P* < 0,05) das concentrações de lactato (C: 1,260 ± 0,371; I: 7,584 ± 1,264*), glicose (C: 8,161 ± 1,111; I: 19,774 ± 1,837*), e diminuição, também significativa, da razão acetoacetato/hidroxibutirato (C: 2,970 ± 0,682; I: 0,925 ± 0,119*), do potencial redox mitocondrial (C: 2053,60 ± 430,55; I: 228,16 ± 40,24*) e citoplasmático (C: 60,24 ± 13,92; I: 18,75 ± 10,41*). Com 1 hora (grupo 2), houve elevação estatisticamente significativa das concentrações de lactato (C: 3,920 ± 0,359; I: 6,343 ± 0,935*).

Na Tabela 2, em que foram avaliadas as alterações metabólicas das concentrações de lactato, piruvato, glicose, corpos cetônicos e razão acetoacetato/hidroxibutirato no sangue arterial (µmol/mL), ocorreram elevações significantes nas concentrações de glicose no tempo 0 hora (grupo 1) (C: 4,143 ± 0,676; I: 7,039 ± 0,713) e 1 hora (grupo 2) (C: 5,738 ± 0,639; I: 9,425 ± 1,439*). Já com os corpos cetônicos (C: 0,160 ± 0,022; I: 0,032 ± 0,007*) e razão acetoacetato/hidroxibutirato (C: 0,905 ± 0,193; I: 0,035 ± 0,035**, *P* < 0,0002**) houve diminuição importante 1 hora pós-isquemia (grupo 2).

Na Tabela 3, houve aumento significativo, no tempo 1 hora (grupo 1), das concentrações dos corpos cetônicos (I: 0,032 ± 0,007; I + ciclosporina (I + Cya): 0,142 ± 0,020***, *P* < 0,005) e da razão acetoacetato/3-hidroxibutirato (I: 0,035 ± 0,035; I + Cya: 0,193 ± 0,036***) no sangue arterial (µmol/mL) em resposta ao tratamento com ciclosporina quando comparado com o grupo submetido a isquemia.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo vão ao encontro dos resultados da literatura, pois evidenciaram aumento do lactato hepático na fase aguda após revascularização, particularmente nos primeiros minutos⁽⁶⁾. No tempo 0 hora (imediatamente após 60 minutos de isquemia hepática sem revascularização), cerca de 30% do fígado (lobo lateral direito e caudado) permaneceu perfundido e, portanto, funcional.

TABELA 1 – Alterações com o tempo nas concentrações de lactato, piruvato, glicose, corpos cetônicos, razão acetoacetato/hidroxibutirato, estado redox mitocondrial e citoplasmático no fígado (µmol/g) n = 6 para cada grupo

	0h (grupo 1)		1h (grupo 2)		6h (grupo 3)		24h (grupo 4)	
	C	I	C	I	C	I	C	I
Lactato	1,260±0,371	7,584±1,264*	3,920±0,359	6,343±0,935*	3,652±0,668	3,861±0,397	1,744±0,463	3,203±1,114
Piruvato	0,221±0,022	0,168±0,016	0,195±0,032	0,236±0,061	0,190±0,019	0,158±0,014	0,076±0,010	0,131±0,053
Glicose	8,161±1,111	19,774±1,837*	12,047±1,198	15,452±1,629	2,584±0,468	2,153±0,253	8,873±0,488	6,121±0,850
Corpos cetônicos	0,452±0,028	0,338±0,028	0,384±0,066	0,392±0,041	0,378±0,062	0,520±0,049	0,0269±0,040	0,268±0,034
ACAC/HDBT	2,970±0,682	0,925±0,119*	2,476±0,498	1,583±0,301	2,159±0,756	0,926±0,219	1,113±0,464	1,496±0,646
Potencial redox citoplasmático	2053,60±430,55	228,16±40,24*	459,50±72,44	326,66±40,18	523,00±64,57	386,83±49,08	554,50±130,07	400,0±135,57
Potencial redox mitocondrial	60,24±13,92	18,75±10,41*	18,75±10,41	32,10±6,11*	43,77±15,34	18,87±4,44	22,96±9,40	30,33±13,10

Os resultados são expressos como média + EPM

C = controle; I = isquemia

ACAC/HDBT = razão acetoacetato/hidroxibutirato

**P* < 0,05 em relação ao controle

TABELA 2 – Alterações com o tempo nas concentrações de lactato, piruvato, glicose e corpos cetônicos e razão acetoacetato/hidroxibutirato no sangue arterial ($\mu\text{mol/mL}$) $n = 6$ para cada grupo

	0h (grupo 1)		1h (grupo 2)		6h (grupo 3)		24h (grupo 4)	
	C	I	C	I	C	I	C	I
Lactato	1,085+0,423	1,845+0,380	2,460+0,399	4,461+0,937	2,298+0,597	2,463+0,359	1,827+0,277	2,529+0,580
Piruvato	0,172+0,013	0,104+0,036	0,058+0,025	0,026+0,006	0,112+0,026	0,088+0,015	0,084+0,009	0,137+0,036
Glicose	4,143+0,676	7,039+0,713*	5,738+0,639	9,425+1,439*	1,680+0,299	1,477+0,122	2,076+0,326	2,076+0,714
Corpos cetônicos	0,133+0,016	0,089+0,024	0,160+0,022	0,032+0,007*	0,170+0,025	0,157+0,026	0,198+0,048	0,244+0,046
ACAC/HDBT	2,406+1,102	1,488+0,857	0,905+0,193	0,035+0,035**	0,436+0,085	0,294+0,050	0,365+0,137	0,267+0,124

Os resultados são expressos como média + EPM

C = controle; I = isquemia

ACAC/HDBT = razão acetoacetato/hidroxibutirato

* $P < 0,05$ em relação ao controle

** $P < 0,0002$ em relação ao controle

TABELA 3 – Alterações nas concentrações dos corpos cetônicos no sangue arterial ($\mu\text{mol/mL}$) e na razão acetoacetato/3-hidroxibutirato em resposta ao tratamento com ciclosporina após 1h de reperfusão hepática $n = 6$ para cada grupo

	C	I	C + Cya	I + Cya
Corpos cetônicos	0,160+0,022	0,032+0,007	0,119+0,018	0,142+0,020*
ACAC/HDBT	0,095+0,193	0,035+0,035	0,678+0,172	0,193+0,036*

Os resultados são expressos como média + EPM

C = controle; I = isquemia; Cya = ciclosporina

ACAC/HDBT = razão acetoacetato/hidroxibutirato

* $P < 0,005$ em relação à isquemia sem tratamento

Desta forma, houve metabolização do lactato, e vitando o seu acúmulo na circulação sanguínea. Isto pode explicar a ausência de hiperlactacemia neste tempo estudado (Tabelas 1, 2).

Os níveis hepáticos de lactato caíram com o tempo, podendo indicar recuperação progressiva dos hepatócitos quando o fluxo sanguíneo é restaurado. É possível que o acúmulo progressivo de lactato no fígado, durante a isquemia hepática, possa ser um dos fatores responsáveis por dano celular irreversível, visto que nos experimentos de FARKOUH et al.⁽⁵⁾ nenhum cão sobre viveu quando os níveis deste metabólito ultrapassaram $17 \mu\text{mol/g}$ de tecido hepático (Tabela 2).

A isquemia hepática elevou consideravelmente a concentração de glicose no fígado somente no tempo 0 hora. No fígado isquêmico pode haver ativação da fosforilase hepática com incremento da glicogenólise, tal como acontece no músculo cardíaco⁽¹¹⁾. Portanto, a glicogenólise ativada pode explicar a elevação da concentração de glicose hepática (Tabela 1).

Nos tempos 1 hora, 6 horas e 24 horas pós-isquemia não houve diferença nas concentrações de glicose hepática entre os grupos controle e isquêmico, provavelmente pela reoxigenação do tecido

hepático com retorno da respiração celular e conseqüente diminuição da glicogenólise.

As glicemias sanguíneas se elevaram nos tempos 0 hora e 1 hora. Tal fato se deve, provavelmente, ao bloqueio de captação de glicose pelo fígado isquêmico e pela liberação para circulação da glicose armazenada a partir do glicogênio hepático (Tabela 2).

A isquemia hepática acarretou queda acentuada da concentração dos corpos cetônicos e da razão acetoacetato/3-hidroxibutirato no sangue no tempo 1 hora pós-isquemia, possivelmente decorrente da redução da síntese destes metabólitos. Com o decorrer do tempo (6 horas e 24 horas), esse valores voltaram a níveis semelhantes aos encontrados no grupo-controle, sugerindo recuperação do hepatócito após injúria isquêmica. No fígado houve diminuição significativa da razão dos corpos cetônicos no tempo 0 hora. É provável que neste tempo de estudo, o tecido hepático, que permaneceu vascularizado (lobo lateral e caudado), tenha sido responsável pelo balanço e conseqüente normalização da razão dos corpos cetônicos na circulação arterial (Tabelas 1, 2).

A isquemia hepática causou queda tanto no estado redox citoplasmático, como do mitocondrial no tempo 0 hora. Desta forma,

houve redução entre estes dois compartimentos na razão $[NAD^+]/[NADH]$, dificultando o transporte de elétrons e, conseqüentemente, a formação de ATP¹². Nos tempos seguintes (1 hora, 6 horas, 24 horas), a revascularização parece ter restaurado o estado redox das células hepáticas, visto que não houve diferenças entre animais isquêmicos e os grupos de controle (Tabela 1).

A ciclosporina causou elevação da razão dos corpos cetônicos no sangue arterial, mas não se elevou no tecido hepático. Portanto, o aumento da razão acetoacetato/3-hidroxi-butarato no sangue não refletiu a recuperação da função mitocondrial hepática. Deste modo, o efeito protetor da ciclosporina na injúria pós-isquêmica do fígado poderia estar relacionada ao aumento da capacidade de sintetizar corpos cetônicos, já que houve elevação das concentrações destes metabólitos no sangue no tempo estudado. Este efeito protetor da ciclosporina pode estar relacionado à inibição da abertura dos canais de cálcio dependentes da membrana interna mitocondrial associados à produção diminuída de radicais livres de oxigênio^(3,8). O efeito protetor da ciclosporina na prevenção de lesões hepáticas ocasionadas por isquemia é também devido à modulação da produção de fator de necrose tumoral (FTN)^(9,10). O aumento dos níveis de FTN pré-transplante está relacionado com rejeição aguda pós-transplante⁽¹⁾. Assim sendo, é pertinente especular que a utilização de ciclosporina em receptores antes do transplante ou seu uso em

soluções de preservação, poderá melhorar os resultados do transplante hepático.

CONCLUSÕES

A isquemia hepática ocasionou aumento significativo das concentrações de lactato no fígado, sugerindo pronunciado grau de metabolismo anaeróbico durante o período de isquemia e o período inicial de reperfusão.

Houve elevação da concentração de glicose no fígado, provavelmente por ativação da enzima fosforilase e conseqüente glicogenólise. No sangue houve hiperglicemia, provavelmente resultante do bloqueio de captação de glicose pelo fígado isquêmico e pela liberação para circulação da glicose armazenada a partir do glicogênio hepático.

A concentração dos corpos cetônicos e a razão acetoacetato/3-hidroxi-butarato no sangue caíram, possivelmente devido à redução de síntese destes metabólitos.

O estado redox citoplasmático e mitocondrial das células hepáticas diminuiu somente no tempo 0 hora, sugerindo que a revascularização com normalização da oferta de oxigênio recupera rapidamente o estado redox.

A ciclosporina causou elevação significativa das concentrações dos corpos cetônicos e da razão acetoacetato/3-hidroxi-butarato no sangue arterial, podendo refletir recuperação da função hepática.

Garcia JHP, Coelho GR, Sousa IT, Siqueira RP, Vasconcelos PRL. Induced metabolic alterations due to experimental normothermic hepatic ischemia and the hepatoprotector effect of cyclosporin. *Arq Gastroenterol* 2004;41(1):54-59.

ABSTRACT – Background – Hepatic transplantation is inevitably associated with periods of complete ischemia. However, the clamping of hepatic vascular pedicle is limited by the consequences of the post-ischemic injury to the liver. **Aim** – To determine the main metabolic alterations caused for the hepatic ischemia and the probable hepatoprotective effect cyclosporin. **Method** – Normothermic hepatic ischemia during 60 minutes was induced in the rats. The time-course (0, 1, 6, 24 hours) of changes in blood and in the hepatic concentrations of lactate, pyruvate, glucose, ketone bodies and in the ratio of acetoacetate/3-hydroxybutyrate, as well as the cytoplasmic and mitochondrial redox state of the liver cells were determined. A group of animals was daily pre-treated with cyclosporine (10 mg/kg) during 4 days until the induction of hepatic ischemia, then they studied 1 hour after hepatic revascularization. Hepatic ischemia caused elevation in the concentrations of lactate in the liver, suggesting that a pronounced level of anaerobic metabolism occurred during the ischemia period. Liver ischemia promoted yet a fall in the concentration and in the ratio of ketone bodies (acetoacetate/3-hydroxybutyrate) in the arterial blood in the studied period of one hour post-revascularization, perhaps reflecting impairment of ketogenesis as a result of the ischemic injury. **Conclusion** – The treatment with cyclosporine cause elevation in the concentration of ketone bodies and in the ratio of acetoacetate/3-hydroxybutyrate in the arterial blood 1 hour after reperfusion of the liver, suggesting that these drugs may accelerate the recovery of the ischemic hepatic lesion with reactivation of ketogenesis.

HEADINGS – Liver. Hepatectomy. Ischemia. Cyclosporin. Rats.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bathgate AJ, Lee P, Hayes P, Simpson KJ. Pretransplantation tumor necrosis factor-alpha production predicts acute rejection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2000;6:721-7.
2. Calne RY. Transplantation of the liver. *Ann Surg* 1978;188:129.
3. Crompton M, Ellinger H, Costi A. Inhibition by cyclosporin A of a Ca²⁺-dependent pore in heart mitochondria activated by inorganic and oxidative stress. *Biochem J* 1988;255:357.
4. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, Hannoun L, Parc R, Deriaz H, Lienhart A, Uguet C. Vascular occlusions for liver resections: operative management and tolerance to hepatic ischemia. *Ann Surg* 1989;209:211-8.
5. Farkouh E, Daniel AM, Beaudoin JG, McLean LD. Predictive value of liver biochemistry in acute hepatic ischemia. *Surg Gynecol Obstet* 1971;5:832-8.
6. Harris KA, Wallace AC, Wall WJ. Tolerance of the liver to ischemia in the pig. *J Surg Res* 1982;33:524-30.
7. Huguet C, Nordlinger B, Bloch P, Conard J. Tolerance of the human liver to prolonged normothermic ischemia. *Arch Surg* 1978;113:1448-51.
8. Igbavboa U, Zwizinski CW, Pfeiffer DR. Release of mitochondrial matrix proteins through a Ca²⁺-requiring, cyclosporin-sensitive pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:619.
9. Ishii T, Kim YI, Kawano K, Tatsuma T, Shimada T, Kitano S. Amelioration of tumor necrosis factor release by cyclosporine in warm ischemia/reperfusion injury of the rat liver: with special reference to hepatic ultrastructure. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999;6:267-74.
10. Mizuta K, Ohmori M, Miyashita F, Kito Y, Fujimura A, Mori M, Kanno T, Hashizume. Effect of pretreatment with FTY720 and cyclosporin on ischemia-reperfusion injury of the liver in rats. *J Pharm Pharmacol* 1999;51:1423-8.
11. Newsholme EA, Start C. The [NAD⁺]/[NADH] ratios in the cytoplasmic and mitochondrial compartments of the liver cell. In: Newsholme EA, Start C, editores. *Regulation in metabolism*. ENGLAND JW. Arrowsmith Bristol 1981;7:324-8.
12. Newsholme EA, Start C. Regulation of glycogen metabolism. In: Newsholme EA, Start C. *Regulation in metabolism*. London: Wiley; 1981. p.300-23.
13. Travis DL, Fabia R, Netto GG, Husberg BS, Goldstein RM, Klintmalm GB, Levy MF. Protection by cyclosporine A against normothermic liver ischemia-reperfusion in pigs. *J Surg Res* 1998;75:116-26.

Recebido em 23/12/2002.
Aprovado em 10/7/2003.