

ANTONIO ROBERTO FRANCHI TEIXEIRA

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da FCM/UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Cirurgia do médico ANTÔNIO ROBERTO FRANCHI TEIXEIRA. Campinas, 22 de novembro de 2000.

Prof. Dr. LUIZ SÉRGIO LEONARDI



**ESTUDO DA LIBERAÇÃO RENAL DE GLICOSE EM
COELHOS SUBMETIDOS À HEPATECTOMIA TOTAL
FUNCIONAL E À INFUSÃO DE NORADRENALINA.**

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Campinas

2000

ANTONIO ROBERTO FRANCHI TEIXEIRA

***ESTUDO DA LIBERAÇÃO RENAL DE GLICOSE EM
COELHOS SUBMETIDOS À HEPATECTOMIA TOTAL
FUNCIONAL E À INFUSÃO DE NORADRENALINA.***

*Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Mestre em Cirurgia.*

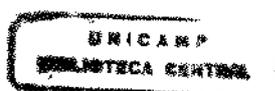
Orientador: Prof. Dr. Luís Sérgio Leonardi

Co-orientador: Prof. Dr. Mário José Abdalla Saad

Campinas

2000

iii



6271228

IDADE 30
CHAMADA: T/ UNICAMP
73356
Es.
BO BC/ 44979
c. 16-392101
 D
RS 1100
27/06/01
CPD

MO0157478-5

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FÁCULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

T235e

Teixeira, Antonio Roberto Franchi

Estudo da liberação de glicose em coelhos submetidos à hepatectomia total funcional e à infusão de noradrenalina / Antonio Roberto Franchi Teixeira. Campinas, SP : [s.n.], 2000.

Orientadores : Luís Sérgio Leonardi, Mário José Abdalla Saad
Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Glicose. 2. Fígado - cirurgia. 3. Coelho como animal de laboratório. I. Luís Sérgio Leonardi. II. Mário José Abdalla Saad. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca Examinadora da Tese de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Luís Sérgio Leonardi



Membros:

1. Prof. Dr. Luís Sérgio Leonardi:



2. Prof. Dr. Orlando de Castro e Silva Júnior:



3. Prof. Dra. Ilca de Fátima Santana Ferraz Boim:



Curso de Pós-Graduação em Cirurgia, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 22/11/07

DEDICATÓRIAS

À minha esposa

Ana Cristina

pela fé em tudo o que ainda vai nos acontecer.

Ao meu avô Dr. Ângelo Elyseu Franchi

(in memoriam)

porque ele sempre está comigo.

Aos meus pais

Antonio e Therezinha

por fazerem de suas vidas

algo que vale a pena ser vivido.

Aos meus irmãos Marinice e Herbert

pela torcida insuperável.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Luís Sérgio Leonardi, mestre de gerações e pioneiro no Transplante de Fígado.

Ao Professor Mário José Abdalla Saad, professor e amigo sempre.

À bióloga Gracinda Lourdes Jorge e sua equipe, pela inteligência, perspicácia e dedicação.

À Professora Ilka de Fátima S. Boim, pelas idéias sempre originais.

Ao Professor J. Ricardo N. Góes, pela opinião sempre crítica e correta.

Ao pessoal do Laboratório do Centro Cirúrgico (Cidinha, Ermani e equipe), pela dedicação e presteza.

À bióloga Fernanda A. Rojas, pela ajuda e amizade.

Ao residente Leonardo F. Zimmermann, pela amizade e paciência.

À Ana e William, funcionários do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, pela estimada ajuda e colaboração.

À Professora Maria Luiza B. Coelho, por seu estimado afeto e esmerada correção gramatical.

À Professora Sherian K. Bowyer, por sua amizade e dedicada revisão do Inglês.

Ao amigo Dr. Orlando Petrucci Jr, pela paciência em dividir conhecimentos.

À Subcomissão de Pós-Graduação, na pessoa do Prof. Dr. Mário Mantovani e sua secretária Marisa, pela ajuda inestimável.

À FAPESP- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento do projeto.

4. RESULTADOS	47
4.1. Grupo 1.....	49
4.2. Grupo 2.....	53
4.3. Comparando os dois grupos.....	58
5. DISCUSSÃO	61
5.1. Escolha do coelho como animal de experimentação.....	63
5.2. Experimentos-piloto.....	63
5.3. Criação dos grupos.....	64
5.4. Animais do grupo 1.....	65
5.5. Animais do grupo 2.....	66
5.6. Comparando os dois grupos.....	66
5.7. Neoglicogênese renal.....	67
5.8. Regulação da neoglicogênese.....	67
5.9. Consideração final.....	69
6. CONCLUSÕES	71
7. SUMMARY	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
9. ANEXOS	87

LISTA DE ABREVIATURAS

TOF-	transplante ortotópico de fígado
NAdr-	noradrenalina
PAM-	pressão arterial média
χ^2 calc-	qui-quadrado calculado
z. calc-	diferença calculada
delta %-	variação percentual de resposta
PEP-	fosfoenolpiruvato

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1: Médias das glicemias arteriais dos animais sob infusão de NAdr (grupo 1).....	50
Tabela 2: Médias das glicemias venosas dos animais sob infusão de NAdr (grupo 1).....	51
Tabela 3: Qui-quadrados calculados (χ^2 calc) dos valores das glicemias arteriais e venosas dos animais do grupo 1, calculados pelo teste de Friedman.....	53
Tabela 4: Diferenças calculadas (z. calc) entre os valores das glicemias arteriais e venosas em cada tempo dos animais do grupo 1, calculadas pelo teste de Wilcoxon.....	53
Tabela 5: Médias das glicemias arteriais dos animais submetidos à hepatectomia total e à infusão de NAdr (grupo 2).....	55
Tabela 6: Médias das glicemias venosas dos animais submetidos à hepatectomia total e à infusão de NAdr (grupo 2).....	56
Tabela 7: Qui-quadrados calculados (χ^2 calc) dos valores das glicemias arteriais e venosas dos animais do grupo 2, calculados pelo teste de Friedman.....	58
Tabela 8: Diferenças calculadas (z. calc) entre os valores das glicemias arteriais e venosas em cada tempo dos animais do grupo 2, calculadas pelo teste de Wilcoxon.....	58
Tabela 9: Diferenças entre as variações percentuais (delta%) dos valores das glicemias arteriais dos animais do grupo 1 e do grupo 2, calculados pelo teste de Mann-Whitney.....	59
Tabela 10: Diferenças entre as variações percentuais (delta%) dos valores das glicemias venosas dos animais do grupo 1 e do grupo 2, calculados pelo teste de Mann-Whitney.....	60

LISTA DE GRÁFICOS

	PÁG.
Gráfico 1: Curvas das glicemias arteriais e venosas dos animais que receberam NAdr e não foram submetidos à hepatectomia total funcional (grupo 1).....	52
Gráfico 2: Curvas das glicemias arteriais e venosas dos animais que receberam NAdr e foram submetidos à hepatectomia total funcional (grupo 2).....	57

RESUMO

O transplante de fígado é, atualmente, um procedimento bem aceito para o tratamento das doenças hepáticas terminais. Após a retirada do fígado nativo, inicia-se um período onde o indivíduo permanece sem fígado. Esse período se estende até o momento da reperfusão do enxerto e é chamado de período anepático do transplante. Nessa fase, as alterações metabólicas são frequentes, e a hipoglicemia, hipoteticamente, deveria ocorrer. No entanto ela quase nunca aparece. A fonte endógena de glicose, durante a fase anepática do transplante de fígado, ainda não é conhecida.

Com o objetivo de estudar as prováveis fontes endógenas de glicose na ausência do fígado (equivalente à fase anepática do transplante de fígado), foi criado um modelo experimental de hepatectomia total funcional em coelhos anestesiados. A fim de estudar se existe liberação renal de glicose após a hepatectomia, foram cateterizadas a aorta, ao nível da emergência das artérias renais, e a veia renal direita, para colheita de dosagens de glicemias seriadas.

Os experimentos-piloto demonstraram a necessidade de se infundir droga vasoativa (noradrenalina-NAdr) para evitar hipotensão após a retirada do fígado. Foram, então, criados dois grupos de animais: grupo 1, com cinco animais submetidos à infusão de NAdr que tiveram seus fígados intactos; e o grupo 2, com quinze animais também submetidos à infusão de NAdr, mas que tiveram seus fígados retirados. Os resultados demonstram que, no grupo 2, antes da hepatectomia, as dosagens de glicemias arteriais foram maiores que as venosas e, após a retirada do órgão, esses valores tornaram-se menores. Isso configurou inversão das curvas das glicemias, conforme pode ser visto no gráfico 2. No grupo 1 (animais sob efeito exclusivo de NAdr), as curvas não apresentaram essa inversão.

Conclui-se que a inversão das curvas de glicemia, observadas nos animais do grupo 2, não se deve à ação da NAdr e significa liberação renal de glicose após a hepatectomia.

1. INTRODUÇÃO

1.1. O TRANSPLANTE DE FÍGADO.

Até algumas décadas atrás, o tratamento das doenças hepáticas crônicas era desalentador. Doentes portadores de enfermidades hepáticas crônicas em estágio terminal recebiam muito poucos benefícios com o tratamento utilizado. A evolução inexorável da doença hepática crônica sempre foi um obstáculo para o desenvolvimento da hepatologia moderna e, durante muitas décadas, o consenso era de que pouco poderia ser feito. No entanto, durante a década de oitenta, alguns progressos da hepatologia foram consideráveis: a identificação precisa das hepatites virais, o manejo da ascite refratária, o avanço da terapêutica na falência hepática aguda e a melhor compreensão da fisiopatologia da síndrome hepatorenal. Esses fatores melhoraram a expectativa de vida do doente hepatopata crônico, mas foi o transplante ortotópico do fígado (TOF) o mais importante avanço da hepatologia moderna (RODÉS, 1991).

A história dos transplantes de órgãos sólidos vasculares teve início com os trabalhos de CARREL* e ULLMANN**, em 1902.

Starzl e colaboradores desempenharam papel pioneiro na cirurgia do transplante de fígado, a partir da estruturação de um grupo clínico-cirúrgico na década de 50. Esse esforço culminou em êxito em 1963, quando esse grupo obteve o primeiro sucesso cirúrgico (STARZL *et al.*, 1963). A partir de então, outros grupos iniciaram programas de transplante de fígado, como os de Cambridge e Londres, na Inglaterra.

No entanto, sem adequada terapia imunossupressora e na falta de soluções de conservação eficientes, os resultados do procedimento eram desanimadores e não ultrapassavam taxas medíocres de sobrevivência (STARZL *et al.*, 1963). Devido aos maus resultados, poucos centros continuaram dedicando-se ao estudo e à realização do procedimento nas décadas subseqüentes.

* CARREL, A.- La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des viscères. *Lyon Med.*, 98:859, 1902.

** ULMANN, E.- Experimentelle Nierentransplantation. *Wien. Klin. Wschr.*, 15:281, 1902.

Desde o primeiro transplante de fígado, assistiu-se a um progresso extraordinário nos resultados devido ao aperfeiçoamento da técnica operatória, à maior precisão das indicações e, principalmente, devido a uma melhor compreensão dos mecanismos imunológicos presentes no fenômeno da rejeição.

O desenvolvimento de soluções de conservação de órgãos iniciou-se a partir da década de 60, com os trabalhos pioneiros de Belzer em transplante renal, abrindo caminho para o aperfeiçoamento de novas soluções de conservação (BELZER, ASHBY, DUNPHY, 1967; COLLINS, BRAVO-SHUGARMAN, TERASAKI, 1969). No final da década de 80, o grupo da Universidade de Wisconsin (EUA) padronizou uma nova e revolucionária solução. Essa solução continha inibidores da tumefação celular, tampões eficientes e nutrientes que proporcionaram um expressivo aumento no tempo de preservação do fígado (SOUTHARD & BELZER, 1993). Passou a ser conhecida como solução “Universidade de Wisconsin”. Atualmente, é a solução padrão na conservação de fígados para transplante. Seu advento permitiu que o transplante se realizasse com mais tranquilidade e que órgãos pudessem ser enviados a outros centros.

A introdução da azatioprina na década de 70 foi um marco importante na história dos transplantes (CALNE, ALEXANDRE, MURRAY, 1962), mas foi o uso da ciclosporina A por BOREL *et al.* (1977), como fármaco fundamental no controle da rejeição, que possibilitou melhora real na sobrevida de doentes submetidos ao transplante (CALNE *et al.*, 1979; IWATSUKI *et al.*, 1988).

A partir da década de 80, grupos de transplante já existentes ganharam expressão na Europa Central e Ocidental, EUA, Argentina e Brasil. Atualmente, observa-se um grande esforço de implantação do TOF em países que enfrentam problemas éticos, culturais ou religiosos no Oriente Médio, Europa Oriental e Extremo Oriente. Países como o Japão, que simplesmente recusavam o método por motivos filosóficos (rejeitando o conceito de morte encefálica), atualmente já o realizam, utilizando órgãos de doadores cadáveres. No entanto essas particularidades culturais transformaram o Japão no maior centro de transplantes de fígado do mundo, entre doadores vivos relacionados.

No início dos anos oitenta, por meio de uma conferência realizada no Instituto Nacional de Saúde Americano, Starzl conseguiu demonstrar às autoridades que o transplante apresentava resultados positivos, o suficiente para ser considerado um tratamento efetivo, e não mais, um procedimento experimental (JACOBY & ROTH, 1984). Com isso, mais recursos financeiros foram liberados, e o transplante desenvolveu-se sobremaneira em todo o mundo. Na época dessa conferência, haviam sido realizados, até então, cerca de 500 transplantes no mundo. Dez anos depois, Paris foi a sede de um encontro internacional, onde se constatou que dez mil procedimentos já haviam sido realizados. Constatou-se também que cada vez mais aumentava a confiança e a procura pelo procedimento, conseqüentemente as filas de espera alongavam-se, e muitos doentes faleciam à espera de um órgão, que talvez nunca chegasse. Surgiram, então, novos desafios difíceis de serem vencidos: a escassez dos doadores cadáveres e a correta seleção dos potenciais candidatos ao transplante (BISMUTH, 1994; RIMOLA & CIRERA, no prelo).

Atualmente, o transplante é um tratamento eficaz nas hepatopatias terminais e apresenta taxa de sobrevivência após 3 anos, variando entre 75 e 92% (IWATSUKI *et al.*, 1988; BISMUTH, 1994). É, portanto, uma alternativa interessante de tratamento para doentes cuja taxa de sobrevida obtida com tratamentos conservadores seja menor que aquelas obtidas com o transplante (LLACH & RIMOLA, 1991; RODÉS, 1991). Ultimamente, devido aos bons resultados, observa-se uma ampliação das indicações através da inclusão não só de doentes descompensados terminais, mas também de indivíduos com qualidade de vida inaceitável ou que, seguramente, evoluirão mal face à própria história natural da doença (LAKE, 1993; BISMUTH, 1994).

O transplante de fígado (TOF), em suas diversas modalidades, vem tornando-se uma opção terapêutica cada vez mais difundida em nosso meio. A ampliação das indicações e os resultados promissores indicam que esse tipo de procedimento estará cada vez mais presente na medicina atual. Sua importância como um novo modelo para estudo das alterações fisiológicas e fisiopatológicas da homeostase transcende seu valor como procedimento cirúrgico isolado. O TOF veio representar novo enfoque terapêutico em diferentes áreas da medicina, como Clínica Médica, Anestesia, Medicina Intensiva e Cirurgia. O cirurgião de transplantes deve dispor de conhecimentos em áreas básicas da

medicina, que cada vez mais se farão necessários para o melhor entendimento do TOF como fenômeno global e não como evento cirúrgico único e isolado.

Vencida a fase primeira do pioneirismo e da padronização da técnica, a evolução do TOF depende, atualmente, de conhecimentos referentes à metabologia, biologia molecular e imunologia do processo de adaptação do novo órgão. Nesse contexto, o estudo dos parâmetros metabólicos, durante as diferentes fases do procedimento, tem importância ao representar situação fisiológica ímpar em que diferentes mecanismos de manutenção da homeostase estão ativados pela ausência do órgão-chave do controle metabólico, que é o fígado. O advento do TOF representa uma situação nova na história da cirurgia: a possibilidade de se estudar uma situação de insuficiência hepática completa (na retirada do fígado nativo) e reversível (após a reperfusão do enxerto) no mesmo paciente. A retirada do fígado nativo leva a graves alterações hemodinâmicas, hematológicas e metabólicas no indivíduo (DeWOLF *et al.*, 1987; PALNAES-HANSEN *et al.*, 1991; HICKMAN *et al.*, 1992). Dado que o fígado é peça fundamental no metabolismo da glicose, sua ausência por período definido acarreta grandes desarranjos na manutenção do estado metabólico normal (TULLOCK *et al.*, 1984; MALLET *et al.*, 1987; PALNAES-HANSEN *et al.*, 1991).

Fisiologicamente, quando a glicose plasmática está elevada, há uma maior extração hepática dessa hexose, que é, então, armazenada na forma de glicogênio. Durante o jejum, a glicogenólise das reservas hepáticas de glicogênio dá origem a grande parte da glicose necessária para a manutenção das funções vitais. O fígado também é capaz de sintetizar glicose a partir de aminoácidos circulantes, glicerol e lactato pelo processo de neoglicogênese, para que tecidos que se utilizam exclusivamente de glicose possam sobreviver (sistema nervoso, medular renal, córnea, entre outros). Para isso, existem sistemas de inter-relacionamento metabólico entre o fígado, músculos e células vermelhas da sangue. Os ciclos de Cori e da alanina contribuem para a síntese de glicose “de novo”, a partir de substratos produzidos na periferia, como lactato e alanina (HARRIS, 1997).

1.2. A GLICEMIA NA FASE ANEPÁTICA DO TOF.

A chamada fase anepática do transplante compreende o período entre a retirada do órgão nativo e o momento de reperfusão sangüínea do novo fígado, período em que são esperadas as maiores alterações endócrino-metabólicas relacionadas à regulação da glicose plasmática (TULLOCK *et al.*, 1984; CARMICHAEL *et al.*, 1985). Durante essa fase, a hipoglicemia seria previsível devido ao fato de que a utilização periférica de glicose continua ocorrendo enquanto o suprimento hepático está ausente. De fato, há relatos de que, no passado, eram infundidas grandes quantidades de glicose durante a fase anepática do transplante com o objetivo de prevenir o aparecimento de hipoglicemia severa. No entanto, na grande maioria dos doentes, essa hipoglicemia não ocorre. Pelo contrário, é observado um estado normo e até hiperglicêmico durante essa fase (ATCHISON *et al.*, 1989). Também há relato de indução de coma hiperosmolar devido à infusão de grande quantidade de glicose na fase anepática (MACHADO *et al.*, 1976). Questiona-se, atualmente, qual seria a principal fonte de glicose, na ausência do fígado, capaz de produzir energia necessária aos tecidos que somente dela se utilizam por períodos de tempo prolongados.

Alguns autores sugeriram que soluções contendo glicose infundidas na veia dos doentes no decorrer do procedimento preveniriam o aparecimento da hipoglicemia. Porém estudos realizados em grandes séries de transplantes demonstraram que doentes submetidos ao TOF (sem infusão alguma de glicose) não desenvolveram hipoglicemia durante o período de ausência do fígado. Foi, então, advogado o fato de que a manutenção desse estado euglicêmico fosse decorrência da carga de glicose contida em produtos derivados do sangue (plasma humano, albumina e concentrado de hemácias), infundidos em larga escala durante o ato operatório. No entanto a pequena quantidade de glicose presente nesses derivados não parece ser suficiente para manter estados de normoglicemia por períodos tão extensos como duas ou três horas, como pode durar a fase anepática do TOF (ATCHISON *et al.*, 1989). Há evidências clínicas de que doentes que não receberam hemoderivados durante a cirurgia também não apresentaram hipoglicemia acentuada (FREMANN, J.; comunicação pessoal, Birmingham, UK, 1997).

A fonte principal de glicose necessária para a manutenção da homeostase e consumo cerebral durante a ausência do fígado deve, portanto, ser de origem endógena, e não exógena.

1.3. FONTES DE GLICOSE DURANTE A FASE ANEPÁTICA DO TOF.

Classicamente, a musculatura tem sido considerada a principal fonte de reserva energética endógena após o fígado. Ela pode armazenar glicogênio proveniente da dieta e, eventualmente, fornecer substratos energéticos intermediários da glicólise para o fígado através de vias metabólicas bem conhecidas, como o ciclo da alanina (HARRIS, 1997). Pode também lançar mão de outros substratos energéticos como o lactato e o piruvato. A capacidade oxidativa muscular parece ser muito mais importante que sua função de armazenador de compostos energéticos. Estudo de KELLEY *et al.* (1988), na Universidade de Pittsburgh, demonstrou que, após oferecer glicose (1g/kg) a voluntários saudáveis, um terço dessa glicose foi retirado pelos músculos, um terço foi extraído por órgãos esplâncnicos, e um terço foi oxidado imediatamente. A armazenagem muscular foi de apenas 10% da carga total de glicose oferecida, já que o restante da glicose extraída pelo músculo foi oxidado. Conclui-se, então, que a musculatura não é o mais importante sítio de armazenamento de glicose, nem tampouco o principal local de depósito.

No Brasil, SAAD *et al.* (1989) estudaram o destino de 75 g de glicose ingeridos por voluntários normais, durante 3 horas. Do total dessa carga ingerida, 40% foram processados pela musculatura esquelética e menos de 9 g foram oxidados durante as três horas do experimento, chegando a conclusões semelhantes. Entretanto o músculo não libera glicose para a circulação e, assim, não é fonte endógena dessa hexose.

1.4. O PAPEL DO RIM COMO FONTE DE GLICOSE ENDÓGENA.

O papel do rim no metabolismo da glicose foi considerado de menor importância sob muitas circunstâncias. A experiência clínica demonstra que indivíduos em insuficiência renal terminal têm tendência a desenvolver hipoglicemia (AREM, 1989; MEYER, DOSTOU, GERICH, 1999). Foi também descrito que ratos diabéticos em

cetoacidose têm produção renal de glicose aumentada, em comparação com animais normais (LEMIEUX *et al.*, 1982). CAHILL *et al.* (1966) demonstraram que a liberação renal de glicose no estado pós-absortivo da alimentação é desprezível, mas, durante o jejum (4-6h), passa a ter importância, contribuindo com até 50% da glicose circulante disponível em humanos. Estudos anteriores já sugeriam que o rim possui capacidade de produção de glicose a partir de aminoácidos e glicerol circulantes (KREBS, HEMS, GASCOYNE, 1963). Anteriormente, estudos similares em cães já documentavam a capacidade do rim em aumentar a liberação de glicose em estados de deficiência insulínica (COHN & KOLINSKI, 1948). Ainda assim, há indícios de que a importância do rim no metabolismo de glicose esteja sendo sub-valorizada (ADROGUE *et al.*, 1990).

Estudos clássicos demonstraram que o papel do rim na produção de glicose nos estados pós-absortivos é desprezível. Esses estudos se utilizaram da técnica do balanço arteriovenoso de glicose, baseada no princípio de diluição de Fick (ABER, MORRIS, HOUSLEY, 1966). No entanto esse método apresenta limitações que ainda não foram suficientemente enfatizadas (MARI *et al.*, 1994; STUMVOLL *et al.*, 1995).

Na verdade, existem evidências de que os processos de produção e consumo intra-renais de glicose tenham lugar em diferentes regiões anatômicas do órgão e de que aconteçam simultaneamente (CERSOSIMO, JUDD, MILES, 1994; CHERRINGTON, 1994; STUMVOLL *et al.*, 1995). Desse modo, os processos tenderiam a se anular, e os resultados obtidos com a metodologia do balanço total de glicose renal subestimariam a real importância do rim no controle glicêmico.

Evidências "in vitro" indicam que o rim é capaz de produzir e utilizar glicose. KREBS *et al.* (1963) já haviam demonstrado que as células do túbulo proximal são eficientes em converter precursores de três carbonos, particularmente glicerol e glutamina, em compostos energéticos e que o néfron distal possui grande capacidade de descarboxilação. CERSOSIMO *et al.* (1994), estudando cães conscientes, demonstraram que o balanço final entre produção e consumo de glicose renal em período pós-absortivo está próximo de zero, sendo provável que a hiperinsulinemia fisiológica pode estimular a captação de glicose. Nesse estudo, o uso de traçadores radioativos de carbono demonstrou que existem, simultaneamente, produção e consumo intra-renal de glicose.

Aproximadamente 30% da glicose produzida e consumida no organismo desses cães devem-se aos rins. Isso implica um modelo mais complexo de glico-regulação e demonstra que o papel do rim nessa faceta da homeostase vem sendo sub-valorizado.

1.5. O RIM E A FASE ANEPÁTICA DO TOF.

A função do rim no metabolismo glicêmico, durante a fase anepática do TOF, ainda não está elucidada, mas há evidências clínicas de que pacientes portadores de insuficiência renal crônica apresentam um controle mais difícil dos níveis glicêmicos durante essa fase, inclusive demonstrando eventual hipoglicemia (FREMANN, J.; comunicação pessoal, Birmingham, UK, 1997). Recente trabalho na literatura (JOSEPH *et al.*, 2000) estudou, pela primeira vez, a origem da produção de glicose durante as diversas fases do TOF, através do oferecimento de glicose marcada com deutério radioativo durante o TOF. Esse trabalho demonstrou que havia produção endógena de glicose, sugerindo ser o rim o provável local de origem.

A experiência vivida nos transplantes realizados na Unidade de Transplante de Fígado da Unicamp, na *Unidad de Trasplantes* da Universidade de Barcelona e no *Queen Elizabeth Hospital*-Birmingham, Inglaterra demonstraram-nos que os doentes quase nunca apresentavam hipoglicemia na fase anepática do TOF e convenceram-nos da necessidade de estudar as alterações metabólicas nesse período. Para tal, desenvolvemos um modelo animal com o objetivo de estudar as alterações dos níveis de glicemia, procurando determinar, através das dosagens arteriais e venosas, se o rim é um possível local de produção de glicose. A criação desse modelo tem por objetivo mimetizar as condições fisiológicas da fase anepática do TOF, tornando possível estudar a influência do rim no oferecimento de glicose na presença e na ausência do fígado.

2.OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- Propor modelo experimental em coelhos anestesiados submetidos à hepatectomia total funcional que permita estudar as alterações metabólicas relacionadas à glicose.
- Estudar as glicemias arteriais (aorta) e venosas (veia renal direita) na presença e na ausência de fígado, procurando detectar se há liberação de glicose pelo rim na fase anepática.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL.

3.1.1. Animal de experimentação.

Foram utilizados 20 coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*), variedade Nova Zelândia, do sexo masculino, com peso variando entre 2600 a 3100g (média de 2950g), provenientes de dois criadores especializados em fornecimento de animais de experimentação. A idade dos animais variou entre 4 e 6 meses (média de 5,3 meses).

3.1.2. Local de ambientação do trabalho.

Os animais permaneceram no biotério do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp (climatizado a 24 graus Celsius) por período de 2 semanas e receberam ração específica para coelhos *Coelhil M[®]*, marca de “Socil Pró-Pecuária” (15% de proteína bruta) e água *ad libitum*, até o momento da cirurgia. Os procedimentos cirúrgicos aconteceram no Laboratório de Transplante Experimental da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo, no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp, durante o período da manhã, com a participação da equipe de biólogos do Laboratório.

3.2. MÉTODOS.

3.2.1. Divisão dos grupos.

Os animais foram divididos em dois grupos, a saber:

Grupo 1: Consta de cinco animais que receberam infusão contínua de noradrenalina (NAdr) e tiveram seus fígados intactos durante todo procedimento.

Grupo 2: Consta de quinze animais que também receberam NAdr, mas foram submetidos à hepatectomia total funcional.

Antes de cada experimento, cada animal foi submetido a sorteio do tipo “cara ou coroa” para que a inclusão nos grupos fosse aleatória.

3.2.2. Procedimento cirúrgico padrão comum aos dois grupos.

Todos os animais foram submetidos à atropinização previamente à anestesia geral. Receberam 0,025 mg/kg de sulfato de atropina, via intramuscular, 15 minutos antes da indução anestésica. Foram devidamente pesados e catalogados em fichário próprio (anexo 1). A indução anestésica deu-se por meio de injeção intramuscular de 50 mg de Zoletil 50[®](cloridrato de tiletamina e zolazepan - Virbac laboratórios, marca de Laboratoire Virbac- France).

Os animais foram submetidos à raspagem de pelos da orelha direita, esquerda, da região do pescoço (face ventral) e do abdome com tosquideira elétrica Sunbeam[®]. Foi cateterizada a veia marginal de cada orelha com dispositivo para infusão *butterfly*, calibre 23 (Abbott[®] Laboratórios do Brasil LTDA). Após a venóclise, os animais receberam, por via endovenosa, 50mg de Zoletil 50[®] (tiletamina – zolazepan), foram colocados em decúbito dorsal horizontal e fixados à bancada de experimentação. Após isso, os animais receberam 3 ml de anestésico local (cloridrato de lidocaína a 1% sem vasoconstritor - Laboratório Cristália) injetados no plano hipodérmico na região do pescoço para anestesia local profunda necessária para realização de traqueostomia cirúrgica. A seguir, procedeu-se à incisão mediana da região do pescoço, interessando os planos cutâneo e subcutâneo, a fim de dissecar-se a traquéia para entubação. Após o reparo da traquéia com fio de algodão 0, procedeu-se à curarização através de injeção de brometo de pancurônio (Pavulon[®]-2mg/ml- Laboratórios Cristália) na dose de 0,1 mg/kg. Imediatamente após, realizou-se a abertura da traquéia por incisão longitudinal de 0,5 cm de comprimento para canulação traqueal, utilizando-se tubo para entubação orotraqueal infantil, sem balão de oclusão, calibre 3. A cânula foi conectada a um ciclador modelo Takaoka[®] na frequência de 60 movimentos por minuto, sendo alimentado por fonte de oxigênio puro. Em seguida, os animais receberam uma terceira dose (50 mg) endovenosa de anestésico (Zoletil[®]) para a obtenção de plano anestésico profundo. Após trinta minutos do início do procedimento, os animais receberam dose adicional endovenosa de mais 50 mg de Zoletil[®].

Os animais receberam fluido cristalóide pela venóclise (solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%) através de bomba de infusão, na velocidade inicial de 15 ml/kg/hora, para a manutenção de volemia adequada. A partir do momento da curarização, os animais passaram a receber solução de Noradrenalina (NAdr) por bomba de infusão na taxa de 0,03 µg/kg/min.

Iniciou-se o procedimento por laparotomia mediana ampla, interessando desde o processo xifóide até a região da sínfise púbica, o que permitiu uma boa exposição da cavidade peritoneal. Realizou-se o inventário completo da cavidade, objetivando excluir animais que, eventualmente, apresentassem tumorações intracavitárias ou fígado de aspecto cirrótico. Um animal foi excluído do estudo por apresentar nodulações no fígado que lembravam o aspecto de cirrose micronodular.

A seguir, procedeu-se à exposição e ligadura das artérias e veias ilíacas. Essa ligadura demonstrou ser necessária para que a influência metabólica da massa muscular (no coelho, grandemente concentrada nos músculos quadríceps) fosse excluída. Tal manobra também demonstrou ser útil na manutenção dos níveis pressóricos. O próximo passo constituiu-se na exposição ampla da aorta abaixo da emergência das artérias renais e da veia cava inferior em sua porção infra-hepática. Foi também dissecada a veia renal direita e mobilizado o rim direito através da secção dos ligamentos retroperitoniais. Foi então cateterizada a aorta em sua porção infra-renal com catéter de plástico, calibre 4 (sonda uretral), de maneira que a extremidade deste estivesse localizada ao nível da emergência das artérias renais. Foi acoplado a esse catéter um sistema de aferição da pressão arterial média (PAM), através de manômetro aneróide usado em esfigmomanômetros comuns, o que permitiu monitorizar a PAM de maneira contínua durante todo o procedimento. O manômetro foi fixado a um suporte vertical ao mesmo nível do átrio do animal. A veia cava inferior foi cateterizada com sonda do tipo *venocath* (VENISYSTEM®-USA), calibre 14 (Intracath® infantil), de maneira que sua extremidade se situasse no interior da veia renal direita. Para que esse objetivo fosse atingido, foi necessário aquecer o catéter para conferir uma suave curvatura à extremidade do mesmo.

Foi realizado controle do débito urinário dos animais por cateterização uretral para certificar que a filtração renal estivesse presente todo o tempo do experimento.

Desse modo, obtivemos um modelo de um animal atropinizado, profundamente anestesiado, inconsciente, oxigenado e monitorizado quanto à pressão arterial média, com catéteres localizados na emergência das artérias renais e no interior da veia renal direita.

Para cada animal, foi confeccionada uma ficha de controle de experimento que está demonstrada no anexo 1.

Após a colheita do material necessário, os animais foram sacrificados por asfixia, através da desconexão do sistema de suporte ventilatório.

3.2.3. Intervenção realizada nos animais do grupo 1.

Os animais do grupo 1 não foram submetidos à hepatectomia total funcional. Esses animais, já anestesiados e recebendo NAdr na taxa de infusão de $0,03\mu\text{g/ml/min}$, foram submetidos a uma primeira colheita sangüínea dos catéteres localizados na aorta e no interior da veia renal direita para dosagem de glicemia.. Cinco minutos depois, ocorreu nova colheita e, após mais cinco minutos, nova colheita. Após essa terceira colheita, a taxa de infusão de NAdr foi elevada para $0,10\mu\text{g/ml/min}$ e esse momento foi designado como “tempo zero”. Cinco minutos mais tarde, foram colhidas novas amostras. Assim, procedeu-se a colheitas de novas amostras, 10, 15, 25, 35, 45 e 55 minutos após o tempo zero, segundo o esquema disposto no anexo 2.

3.2.4. Intervenção realizada nos animais do grupo 2.

Os animais do grupo 2 foram anestesiados da mesma maneira e receberam a mesma droga vasoativa (NAdr) nas mesmas doses que os animais do grupo 1. As colheitas de sangue da aorta e veia renal direita para dosagem de glicemia foram realizadas também de maneira idêntica, conforme o esquema demonstrado no anexo 3, porém, no tempo definido como zero, eles foram submetidos à hepatectomia total funcional.

Para a realização da hepatectomia total funcional, foi isolado o ligamento hepatoduodenal com fio de algodão preto trançado, calibre zero, através do forame de Winslow, realizando-se a clássica manobra de Pringle (isolamento do pedículo hepático, interessando veia porta, artéria hepática e, por consequência, o ducto biliar comum. No tempo adequado (tempo 0), os animais foram submetidos à ligadura em bloco dos elementos do ligamento hepatoduodenal (artéria hepática, veia porta e colédoco), o que proporcionou completa isquemia do parênquima hepático. Foi tomado cuidado para que, no momento da ligadura, não ocorresse isquemia inadvertida da região mesentérica. As veias supra-hepáticas e a veia cava inferior em sua porção infra-hepática não foram abordadas. A isquemia arterial e venosa do parênquima hepático foi avaliada em todos os animais através de uma incisão de 0,5 cm de extensão, feita à tesoura em cada um dos lobos hepáticos, de onde não ocorreu sangramento algum.

3.2.5. Tratamento das amostras.

Cada amostra (arterial e venosa) constituiu-se de 350 µl de sangue total, coletados em seringa descartável de 1ml de capacidade, previamente lavado com solução de heparina. A heparina utilizada foi sódica comercial 5000UI/ml (Laboratório Cristália) diluída em água destilada na proporção de 1:4, sendo que a solução continha 1000 UI/ml. As seringas foram lavadas com essa solução, e foi retirado o excesso. Tecnicamente, essa preparação permite que fique uma pequena quantidade da solução 1:1000 de heparina nas paredes da seringa, o que é suficiente para estabilizar até 2 ml de sangue total. As seringas contendo as amostras de sangue foram identificadas uma a uma e lacradas hermeticamente com dispositivos do tipo *cone luer* (Combi-red[®] -Braun Laboratories), evitando-se a presença de bolhas. A seguir, foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos, depositadas em recipiente de isopor resfriado a 4 graus centígrados. Para não ocorrer contato entre as seringas e gelo, o recipiente de isopor foi resfriado, usando-se pequenas bolsas de gelo artificial (Supergelo-Alladin[®]), que foram isoladas com papel toalha absorvente. A temperatura foi monitorizada continuamente e mantida ao redor de 4 graus centígrados. As amostras foram analisadas quanto ao conteúdo de glicose pelo sistema

eletrônico ABL® SYSTEM 625/620 (Radiometer Copenhagen Co.) no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Unicamp. As dosagens de glicose foram expressas em mg/dl.

3.2.6. Método estatístico.

O grupo 2 foi constituído de 15 animais que sofreram hepatectomia total sob estímulo de NAdr. Cada animal foi comparado a ele mesmo, em dois momentos distintos: antes e após a retirada do fígado. A necessidade de receber NAdr durante todo o procedimento constituiu-se numa saída técnica para a manutenção da PAM. No entanto a influência dessa substância poderia ser responsável pelas alterações observadas após a hepatectomia. Por isso foi criado o grupo 1, com 5 animais que somente receberam NAdr e permaneceram com seus fígados intactos. A criação do grupo 1 permitiu estudar a influência isolada da NAdr nos animais, para que os resultados do grupo 2 não fossem mal interpretados.

A observação dos gráficos dos valores das glicemias arteriais (aorta) e venosas (veia renal) nos dois grupos demonstrou obedecer a uma distribuição não coincidente com a curva normal (Gauss). Por conseguinte foram utilizados métodos estatísticos não paramétricos.

Para avaliar as glicemias da aorta e da veia renal direita em ambos os grupos, em relação às possíveis diferenças entre os tempos, foi usado o teste não-paramétrico para "k" amostras não-independentes de Friedman (SIEGEL, 1975).

Para avaliar as possíveis diferenças quanto à glicemia arterial e venosa em ambos os grupos, em cada tempo específico, foi usado o teste não-paramétrico para duas amostras não-independentes de Wilcoxon (SIEGEL, 1975).

Para avaliar as possíveis diferenças das glicemias arteriais e venosas entre os dois grupos, foi utilizado o teste para duas amostras independentes de Mann-Whitney (SIEGEL, 1975).

Nas comparações entre os valores das glicemias arteriais e venosas em ambos os grupos (teste de Mann-Whitney), o tempo inicial (t = -15) foi representado por seu valor absoluto. Nos demais tempos, a comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se a variável definida como sendo o percentual de resposta do tempo estudado em relação ao valor absoluto do tempo inicial (t=-15). Essa variável foi denominada **delta percentual** e definida assim:

$$\text{delta\%} = [(glicemia\ t-15 - glicemia\ t\ estudado)/glicemia\ t-15] \times 100.$$

O nível de rejeição para a hipótese de nulidade (p) foi fixado em um valor igual a 0,05 ou menor que ele. Quando a estatística calculada apresentou significância, foi usado um asterisco (*) para caracterizá-la. Caso contrário, foi utilizada a sigla N.S. (não significativo).

As médias foram calculadas e apresentadas apenas a título de ilustração e, como as distribuições não obedecem ao padrão normal, não foram calculados os desvios-padrão.

4. RESULTADOS

Os dados obtidos a partir das dosagens das glicemias arteriais e venosas nos dois grupos de animais, colhidas nos tempos já especificados, serão demonstradas em tabelas e gráficos.

4.1. GRUPO 1.

A tabela 1 representa as médias dos valores de glicemia, obtidas em amostras colhidas da aorta dos animais do grupo que sofreu influência de NAdr e não foi submetido à hepatectomia total funcional (grupo 1). Esses dados foram retirados do anexo 4. A primeira coluna representa o passar do tempo, medido em minutos em relação a um tempo definido como “zero”, quando foi elevada a taxa de infusão de NAdr. Portanto, aos tempos anteriores à elevação da taxa de infusão de NAdr foram atribuídos valores negativos, e aos posteriores a esta, valores positivos.

Nota-se, na tabela 1, que existe uma hiperglicemia inicial que tende a se elevar com o passar do tempo.

A tabela 2 representa as médias dos valores de glicemia, obtidas em amostras colhidas da veia renal direita dos animais do grupo que sofreu influência de NAdr e não foi submetido à hepatectomia total funcional (grupo 1). Esses dados foram obtidos a partir das dosagens de glicemia presentes no anexo 5. Como na tabela anterior, a primeira coluna representa o passar do tempo, medido em minutos em relação a um tempo definido como “zero”, quando foi realizada a elevação da taxa de infusão de NAdr. Também se nota, na tabela 2, que existe uma hiperglicemia inicial que tende a se elevar com o passar do tempo, embora essa elevação não seja tão acentuada.

O gráfico de número 1 representa visualmente o que foi observado nos animais do grupo 1 e se origina dos dados das tabelas 1 e 2. O eixo horizontal representa os diferentes tempos quando foram colhidas amostras de sangue. O eixo vertical contém os valores de glicemia em mg%. A curva vermelha representa o comportamento das glicemias arteriais ao longo do tempo. A curva verde representa as glicemias venosas, e o tempo “zero” marca o momento do aumento da taxa de infusão de NAdr. A observação do comportamento das curvas nesse gráfico demonstra a elevação das glicemias arteriais e venosas descrita anteriormente nas tabelas 1 e 2.

Os comportamentos das curvas de glicemia arterial e venosa do gráfico 1 foram estudados estatisticamente pelo teste de Friedman, que analisa o comportamento das curvas ao longo do tempo.

A tabela 3 traz os qui-quadrados das glicemias arteriais e venosas dos animais do grupo 1, calculados pelo teste de Friedman. Esse teste, quando aplicado à tabela 1 (curva das glicemias arteriais), resulta no valor 9,808 e, quando aplicado à tabela 2 (curva das glicemias venosas), resulta em 7,865. Ambos os valores não são estatisticamente significativos. Isso demonstra que a elevação dos valores de glicemias arteriais e venosas nos animais do grupo 1 (observada nas curvas do gráfico 1) não é estatisticamente real, representando apenas uma tendência.

Os valores das glicemias arteriais e venosas do gráfico 1 também foram comparados entre si, em cada tempo específico, pelo teste de Wilcoxon, como demonstrado na tabela 4. Em apenas três tempos, a diferença calculada (z . calc) entre os valores de glicemia arterial e venosa foi significativa. Por conseguinte, em 7 tempos, a diferença entre os valores de glicemia arterial e venosa não existiu. Isso demonstra que não é possível identificar um comportamento definido das curvas de glicemia arterial e venosa nos animais desse grupo.

Tabela 1: Médias das glicemias arteriais dos animais sob infusão de NAdr (grupo 1).

tempos (em minutos)	médias das glicemias (em mg%)
-15	375
-10	422
-5	410
5	436
10	432
15	463
25	480
35	468
45	448
55	476

Obs: O tempo “zero” equivale ao momento da elevação da taxa de infusão de NAdr.

Tabela 2: Médias das glicemias venosas dos animais sob infusão de NAdr (grupo 1).

tempos (em minutos)	médias (em mg%)
-15	388
-10	382
-5	411
5	446
10	436
15	462
25	445
35	457
45	446
55	442

Obs: O tempo “zero” eqüivale ao momento da elevação da taxa de infusão de NAdr.

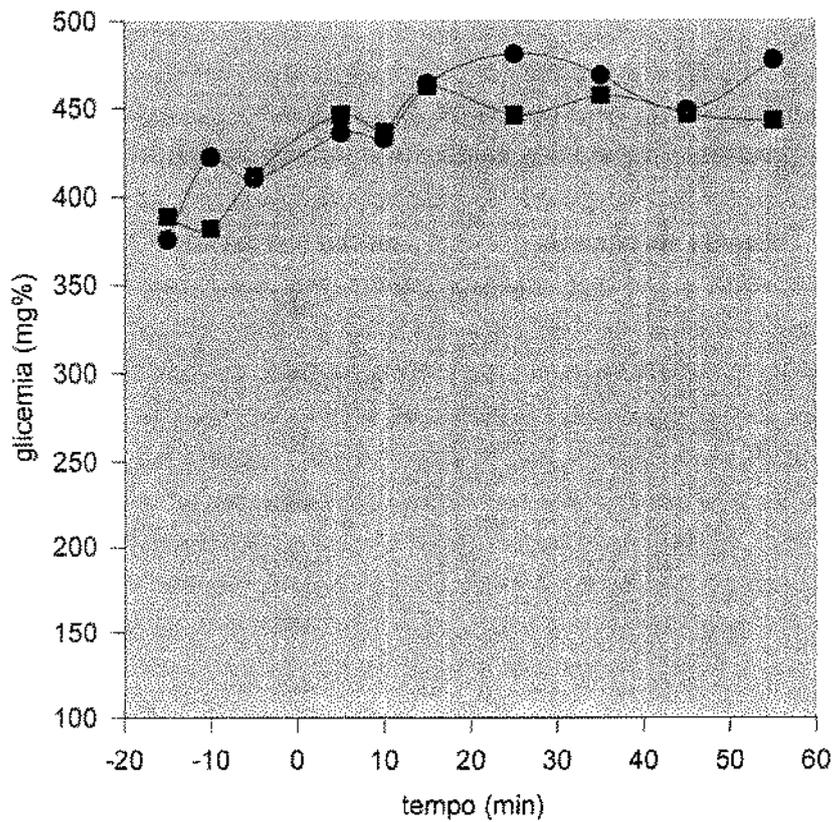


Gráfico 1: Curvas das glicemias arteriais e venosas dos animais que receberam NAdr e não foram submetidos à hepatectomia total funcional (grupo 1).

Obs.₁: O tempo zero equivale ao momento da elevação da taxa de infusão de NAdr.

Obs.₂: Círculos e linha vermelha:- curva das glicemias arteriais (aorta).

Quadrados e linha verde:- curva das glicemias venosas (veia renal direita).

Tabela 3: Qui-quadrados calculados (χ^2 calc) dos valores das glicemias arteriais e venosas dos animais do grupo 1, calculados pelo teste de Friedman.

grupo 1	χ^2 calc	significância
glicemia arterial	9,808	N.S.
glicemia venosa	7,865	N.S.

Tabela 4: Diferenças calculadas (z. calc) entre os valores das glicemias arteriais e venosas em cada tempo dos animais do grupo 1, calculadas pelo teste de Wilcoxon

tempos	z. calc	significância
-15	-0,674	N.S.
-10	-2,023*	Sim
-5	-0,135	N.S.
5	-0,405	N.S.
10	-0,405	N.S.
15	-0,405	N.S.
25	2,023*	Sim
35	-0,944	N.S.
45	-0,135	N.S.
55	-2,023*	Sim

4.2. GRUPO 2.

A tabela 5 representa as médias dos valores de glicemia obtidas em amostras colhidas da aorta dos animais que sofreram influência de NAdr e tiveram seus fígados retirados (grupo 2). Tais dados foram retirados do anexo 6. A primeira coluna representa o passar do tempo em minutos, em relação a um tempo definido como "zero", quando foi realizada a hepatectomia e elevação da taxa de infusão de NAdr. Como no grupo anterior,

aos tempos anteriores ao tempo "zero" foram atribuídos valores negativos, e aos posteriores, valores positivos.

Nota-se na tabela 5 que, desde o início do procedimento, existe hiperglicemia arterial que decai ao longo do tempo, principalmente após a hepatectomia.

A tabela 6 representa as médias dos valores das glicemias obtidas em amostras retiradas da veia renal direita dos animais do grupo que sofreu influência de NAdr e foi também submetido à hepatectomia (grupo 2). Tais dados foram obtidos a partir dos valores das glicemias contidos no anexo 7. Como na tabela anterior, o tempo "zero" representa o momento da hepatectomia e da elevação da taxa de infusão de NAdr. Também se nota, nessa tabela, hiperglicemia já no início do procedimento seguida de queda progressiva dos valores glicêmicos. No entanto essa queda não é tão acentuada como na tabela anterior.

O gráfico 2 representa visualmente o que foi observado nas tabelas 5 e 6. O eixo horizontal contém os diferentes tempos quando foram colhidas as amostras de sangue. O eixo vertical é o eixo dos valores das glicemias arteriais e venosas em mg%. A curva vermelha representa o comportamento das dosagens das glicemias arteriais (aorta) ao longo do tempo. A curva verde, por sua vez, representa o comportamento das glicemias venosas (veia renal direita) ao longo do tempo. As quedas dos valores glicêmicos verificadas nas tabelas 5 e 6 são mais bem observadas nesse gráfico. É possível notar também que a queda dos valores das glicemias venosas não é tão acentuada. Os valores das glicemias arteriais nos tempos negativos (coletas que antecederam a hepatectomia) são maiores que os venosos colhidos nos mesmos tempos. Entretanto, após a hepatectomia (tempos positivos), os valores das glicemias venosas decaem menos que os das arteriais, configurando uma inversão das curvas.

O comportamento das curvas do gráfico 2 foi estudado estatisticamente pelo teste de Friedman. Este teste avalia o comportamento dos valores de glicemia arterial e venosa ao longo do tempo. O valor do qui-quadrado calculado, pelo teste de Friedman, dos dados originários da tabela 5 (curva das glicemias arteriais) foi de 114,529, valor estatisticamente significativo.

Quando aplicado à tabela 6 (curva das glicemias venosas), o qui-quadrado calculado resulta no valor de 83,948, número também estatisticamente significativo. Ambos os resultados demonstram que as quedas das curvas glicemias arteriais venosas dos animais do grupo 2 (visíveis no gráfico 2) são estatisticamente reais e não significam apenas uma tendência.

Os valores das glicemias arteriais e venosas do gráfico 2 também foram submetidos ao teste de Wilcoxon, como demonstrado na tabela 8. Esse teste compara os valores de glicemia arterial e venosa em cada tempo e calcula sua diferença, com o objetivo de averiguar se esses pontos realmente são diferentes entre si. Em todos os tempos estudados, com exceção do tempo $t=5$ min., a diferença calculada (z . calc) foi estatisticamente significativa. O tempo $t=5$ min. é próximo do ponto de inflexão das curvas, portanto é compreensível que a diferença entre o valor de glicemia arterial e venosa não seja estatisticamente significativa apenas nesse tempo. Portanto, as glicemias arteriais nos tempos negativos realmente são maiores que as venosas, e a inversão das curvas que se observa após a hepatectomia é real.

Tabela 5: Médias das glicemias arteriais dos animais submetidos à hepatectomia total e à infusão de NAdr (grupo 2).

tempos (em minutos)	médias das glicemias (em mg%)
-15	285
-10	295
-5	319
5	255
10	222
15	200
25	173
35	156
45	141
55	133

Obs: O tempo "zero" equivale ao momento da hepatectomia e da elevação da taxa de infusão de NAdr.

Tabela 6: Médias das glicemias venosas dos animais submetidos à hepatectomia total e à infusão de NAdr (grupo 2).

tempos (em minutos)	médias das glicemias (em mg%)
-15	266
-10	266
-5	295
5	242
10	239
15	222
25	205
35	177
45	159
55	142

Obs: O tempo “zero” equívale ao momento da hepatectomia e da elevação da taxa de infusão de NAdr.

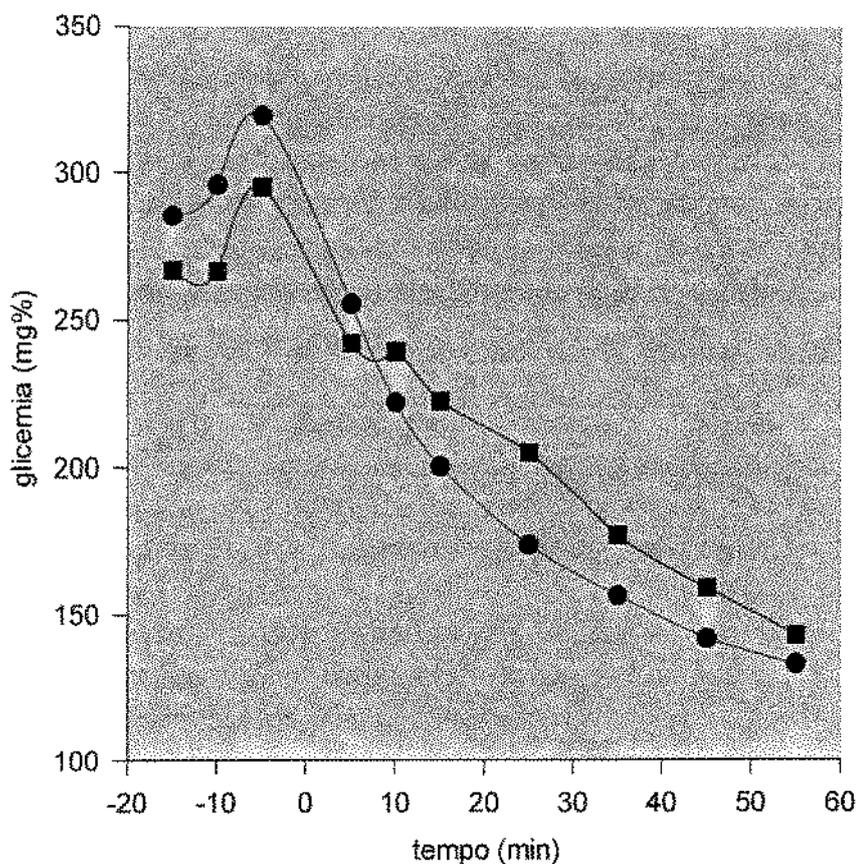


Gráfico 2: Curvas das glicemias arteriais e venosas dos animais que receberam NAdr e foram submetidos à hepatectomia total funcional (grupo 2).

Obs.1: O tempo zero equivale ao momento da hepatectomia e da elevação da taxa de infusão de NAdr.

Obs.2: Círculos e linha vermelha:- curva das glicemias arteriais (aorta).

Quadrados e linha verde:- curva das glicemias venosas (veia renal direita).

Tabela 7: Qui-quadrados calculados (χ^2 calc) dos valores das glicemias arteriais e venosas dos animais do grupo 2, calculados pelo teste de Friedman.

grupo 1	χ^2 calc	significância
glicemia arterial	114,529*	Sim
glicemia venosa	83,948*	Sim

Tabela 8: Diferenças calculadas (z. calc) entre os valores das glicemias arteriais e venosas em cada tempo dos animais do grupo 2, calculadas pelo teste de Wilcoxon

tempos	z. calc	significância
-15	-3,108*	Sim
-10	-2,982*	Sim
-5	-2,161*	Sim
5	-1,423	N.S.
10	-2,386*	Sim
15	-3,268*	Sim
25	-3,480*	Sim
35	-3,238*	Sim
45	-3,26*	Sim
55	-3,239*	Sim

4.3. COMPARANDO OS DOIS GRUPOS.

O teste estatístico de Mann-Whitney foi utilizado para comparar a população de animais do grupo 1 com os do grupo 2, nos tempos determinados. No tempo inicial $t=-15$ min., são comparados os valores das glicemias arteriais e venosas entre os dois grupos. Nos demais tempos, são comparados os percentuais de resposta do tempo estudado em relação ao tempo inicial $t=-15$ (delta%), grandeza já previamente definida.

A tabela 9 apresenta as diferenças percentuais (delta%) entre os valores de glicemia arterial em cada tempo específico, comparando-se o grupo 1 com o grupo 2, com seus respectivos níveis de significância estatística. Esses dados foram extraídos dos anexos 4 e 6. A observação dessa tabela revela que, nos tempos anteriores à hepatectomia, não existe diferença estatística entre os valores de glicemia arterial entre os dois grupos. Isso significa que as duas populações são semelhantes nesse período. Após a hepatectomia, a diferença torna-se significativa em seis dos sete tempos estudados, pois os animais do grupo 2 apresentaram queda acentuada dos valores de glicemia arterial, ao contrário do grupo 1. Isso se deve ao fato de os animais do grupo 2 estarem sem fígado nos tempos positivos, ao contrário dos animais do grupo 1.

A tabela 10, à semelhança da tabela 9, traz as comparações entre os delta % venosos entre os dois grupos. Em dois dos três tempos negativos estudados, a diferença entre os delta% não foi significativa. Isso demonstra que as duas populações também são semelhantes em relação a esse parâmetro (delta %). Nos tempos positivos, houve diferença significativa em cinco dos sete tempos estudados. Esse fato relaciona-se com a hepatectomia realizada no grupo 2 e, em parte, pode ser explicado pela liberação de glicose pela veia renal presente nos animais do grupo 2 e ausente nos animais do grupo 1.

Tabela 9: Diferenças entre as variações percentuais (delta %) dos valores das glicemias arteriais do grupo 1 e do grupo 2, calculadas pelo teste de Mann-Whitney.

tempos	variação percentual	significância
-15	-1,528	N.S.
-10	-0,655	N.S.
-5	-0,480	N.S.
5	-2,052*	Sim
10	-1,615	N.S.
15	-2,751*	Sim
25	2,925*	Sim
35	-2,925*	Sim
45	-2,937*	Sim
55	-2,924*	Sim

Tabela 10: Diferenças entre as variações percentuais (delta %) dos valores das glicemias venosas do grupo 1 e do grupo 2, calculadas pelo teste de Mann-Whitney

tempos	variação percentual	significância
-15	-2,184*	Sim
-10	-0,306	N.S.
-5	-0,393	N.S.
5	-2,052*	Sim
10	-1,528	N.S.
15	-2,139*	Sim
25	1,615	N.S.
35	-2,313*	Sim
45	-2,226*	Sim
55	-2,313*	Sim

5. DISCUSSÃO

5.1. ESCOLHA DO COELHO COMO ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO.

A escolha do coelho como animal de experimentação decorre de características inerentes à espécie. Ainda que o coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) seja parecido a um roedor, estudos de seqüenciamento gênico demonstram que, provavelmente, ele é mais próximo dos primatas que dos roedores (SUCKOW & DOUGLAS, 1997). A variedade albina *New Zealand* é a mais comumente usada em pesquisa experimental, embora existam outras utilizáveis. São animais de comportamento tímido e não-agressivo, e apresentam docilidade em sua lida. As veias marginais da orelha são fáceis de puncionar, e o diâmetro de vasos como a aorta e veia cava inferior permitem uma boa dissecação e cateterização. Existe ainda algum preconceito quanto ao uso desse animal em laboratório, principalmente devido a dificuldades anestésicas encontradas no passado. Isso se deve ao fato de que muitos animais vinham de biotérios não controlados e possuíam parasitas pulmonares e intestinais. Atualmente, os coelhos são animais muito utilizados na pesquisa de novas drogas, inclusive anestésicas (LIPMANN, MARINI, FLECKNELL, 1997). Após anos de utilização em laboratório, foi possível estabelecer parâmetros de normalidade da glicemia sérica em coelhos normais em jejum, que variam de 74 a 148 mg%, segundo a maioria dos autores (SUCKOW & DOUGLAS, 1997; BURNS & DeLANNOY, 1966).

5.2. EXPERIMENTOS-PILOTO.

Os experimentos-piloto (8 animais) que foram realizados a fim de se obter uma correta técnica anestésico-cirúrgica demonstraram que, após a hepatectomia total funcional, todos os coelhos apresentaram profunda hipotensão e má-perfusão orgânica. Na tentativa de controlar a hipotensão, foi adaptado um sistema de infusão controlada (bomba de infusão eletrônica) de solução salina fisiológica (NaCl 0,9%) e realizada a ligadura em bloco das artérias e veias ilíacas antes da realização da hepatectomia. No entanto essa hipotensão grave não pôde ser revertida apenas com esses artificios, sendo necessária a administração de noradrenalina (NAdr) em bomba de infusão contínua para que o quadro se revertesse. Na prática clínica, é comum que seja necessário administrar NAdr na fase anepática do transplante em humanos, com o mesmo objetivo.

Ficou, então, evidente que seria necessário administrar NAdr aos animais que fossem submetidos à hepatectomia para que mantivessem uma boa perfusão esplâncnica. No entanto, se iniciássemos a infusão de NAdr logo após a hepatectomia, as alterações das curvas glicêmicas detectadas após a hepatectomia poderiam ser decorrentes apenas da utilização dessa droga. Para evitar essa distorção, foi iniciada a infusão contínua de NAdr a partir da abertura de parede, para que o animal estivesse recebendo essa droga vasoativa tanto na fase hepática como na fase anepática do experimento. Esse grupo, submetido à hepatectomia e tendo recebido NAdr desde o início, foi chamado de grupo 1.

A taxa de infusão de NAdr no início do procedimento foi de $0,03\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. e, após a hepatectomia, foi elevada para $0,10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. Essas taxas foram as mínimas suficientes para que todos os animais mantivessem pressão arterial média (PAM) adequada de, no mínimo, 50 mmHg, nível considerado aceitável para uma boa perfusão renal. A perfusão renal também foi avaliada pela presença de diurese contínua, verificada através de cateterização vesical durante todo o procedimento em ambos os grupos.

5.3. CRIAÇÃO DOS GRUPOS.

Já que a infusão contínua de NAdr seria inevitável, foi então necessário criar um segundo grupo de animais exatamente igual ao primeiro, recebendo NAdr nas mesmas taxas, mas com uma única diferença: não foi realizada a hepatectomia total funcional. Esse grupo serviu de parâmetro para que se pudesse estudar a ação isolada da infusão contínua de NAdr nas curvas de glicemia arterial e venosa, e foi chamado de grupo 2.

Nos dois grupos de animais, observa-se uma hiperglicemia acentuada nas dosagens arteriais e venosas desde o início do experimento. Isso pode ser explicado por alguns fatos. Primeiramente, os animais vinham sendo alimentados por toda a noite anterior, com ração balanceada *ad libitum*. Foi uma estratégia proposital, porque o objetivo era de se estudar a capacidade de reserva energética renal após a hepatectomia e, se os animais estivessem em jejum prolongado, essa reserva poderia estar diminuída ou ausente. Em segundo lugar, os coelhos são animais muito susceptíveis às descargas de

catecolaminas liberadas em atividades de contenção e punção venosa, apesar de terem recebido dose de pré-medicação anestésica (Zoletil®) e terem sido manipulados pela mesma pessoa em ambiente quieto e com tênue iluminação. Foi também evitada a presença de outros animais no laboratório, pois coelhos têm olfato muito aguçado e se agitam facilmente. Tais descargas podem ter efeito hiperglicemiante em animais plenamente alimentados e poderiam contribuir para a elevada dosagem de glicose encontrada no início do experimento nos animais de ambos os grupos.

5.4. ANIMAIS DO GRUPO 1.

As curvas de glicemia arterial e venosa dos animais do grupo que não foi submetido à hepatectomia (grupo 1) não diminuem ao longo do tempo, pelo contrário, tendem a subir ligeiramente. Isso pode ser explicado pelo fato de que esse grupo de animais permanece com o fígado e sob efeito hiperglicemiante da NAdr. A noradrenalina (NAdr) atua significativamente no metabolismo energético glicêmico (STOELTING, 1987). Como já é conhecido, a NAdr tem ação no metabolismo de carboidratos, porque estimula os receptores β em fígado e pâncreas, reduz a secreção de insulina e eleva a glicemia sérica através da mobilização das reservas energéticas hepáticas (STOELTING, 1987; STUMVOLL *et al.*, 1995; HARRIS, 1997). Esses fatos explicam o comportamento das curvas das glicemias arteriais e venosas dos animais do grupo 1. Elas, aparentemente, tendem a subir, fato provavelmente decorrente da elevação da taxa de infusão de NAdr. Os testes estatísticos aplicados ao gráfico das glicemias destes animais (gráfico 1), demonstram dois fatos importantes. Em primeiro lugar, as curvas de glicemia arterial e venosa não apresentam comportamento definido ao longo do tempo. A tendência à subida, detectada visualmente no gráfico, não é estatisticamente significativa (teste de Friedmann). Em segundo lugar, não existe diferença significativa entre as dosagens de glicemia arterial e venosa na maioria dos tempos (teste de Wilcoxon). Não existe, portanto, nenhum padrão de comportamento estatístico definido de inversão das curvas de glicemia arterial e venosa ao longo do experimento nos animais desse grupo.

desempenhar papel estimulatório na neoglicogênese (HARRIS, 1997; SCHOOLWERTH, SMITH, CULPEPPER, 1988). Os efeitos regulatórios do equilíbrio ácido-básico no processo de neoglicogênese renal são bastante conhecidos. Apesar de o pH ser uma influência constante no metabolismo glicêmico, ele age de maneira distinta no fígado e nos rins. No rim, a acidose metabólica leva a um aumento da capacidade neoglicogênica, enquanto no fígado, essa capacidade está inalterada ou diminuída. A queda abrupta do pH leva a um aumento do fluxo de glutamina na via mitocondrial da neoglicogênese através da mudança dos gradientes de concentração de bicarbonato, ácidos dicarboxílicos, através da membrana mitocondrial (NISSIM, NISSIM, YUKDOFF, 1991). Por outro lado, o efeito do pH leva a um aumento da capacidade catalítica da PEPCK e das glutaminases mitocondriais. Esses efeitos aumentam a capacidade tubular de produção de amônia e glicose. Esta é uma propriedade única da neoglicogênese renal e explica a capacidade que o rim possui de aumentar a produção e excreção de amônia em vários tipos de acidose, como jejum prolongado, fadiga muscular e insuficiência hepática (LEMIEUX *et al.*, 1982). Esse mecanismo relacionado à acidose, provavelmente, está envolvido na situação dos animais do grupo 2 após a hepatectomia.

Mais recentemente, o advento de técnicas de biologia molecular permitiu que se estudasse a atividade do gene que codifica a produção de PEPCK (O'BRIEN *et al.*, 1995) e, como consequência, descobriu-se que o decréscimo do pH apresenta uma influência estimuladora nessa via de síntese protéica (SCHOOLWERTH *et al.*, 1994). Esses mecanismos, descritos na literatura, podem explicar a liberação de glicose pela veia renal após a hepatectomia nos animais deste experimento.

Uma outra consideração deve ser feita. A distribuição da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), que é um dos principais passos regulatórios da neoglicogênese renal, é variável nas diferentes espécies animais (MONTEIL, FILLASTRE, MORIN, 1995). Carnívoros e aves de rapina possuem maior capacidade neoglicogênica que herbívoros, talvez pelo fato de que aqueles são obrigados a passar por períodos longos de jejum, enquanto estes têm alimento disponível na natureza. Aves carnívoras como o urubu têm maior capacidade de se manter euglicêmicas após jejum prolongado que aves graníferas como o pombo (LINDER, 1971; FOSS, 1978). O mesmo acontece com os gatos.

Isso poderia ser explicado por diferenças de hábitos alimentares, por variação entre as espécies ou pela distribuição das enzimas neoglicogênicas nos diversos compartimentos intracelulares. Por isso é possível que a capacidade enzimática glicogenética renal nos coelhos (animal exclusivamente herbívoro) não seja extremamente desenvolvida. Isso pode explicar o fato de que, apesar de a curva das glicemias venosas haver sobrepujado a curva das glicemias arteriais após a hepatectomia, a liberação renal de glicose não foi suficiente para evitar hipoglicemia sistêmica nos animais hepatectomizados (grupo 2).

5.9. CONSIDERAÇÃO FINAL.

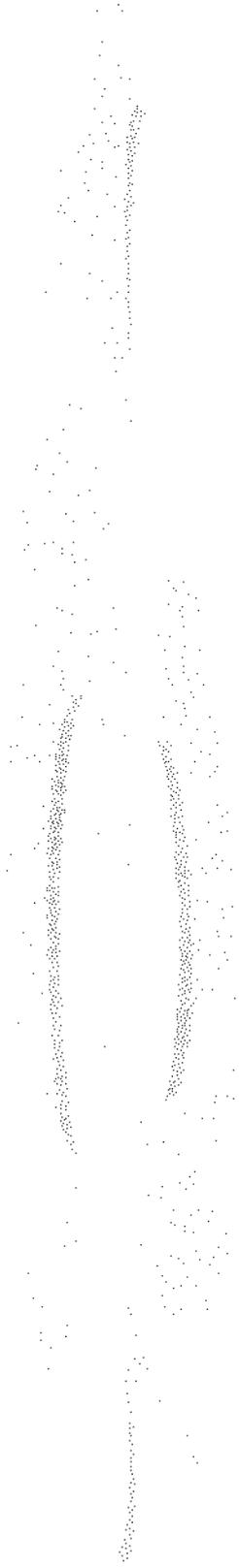
Uma consideração importante é o fato de que foi cateterizada apenas a veia renal direita dos animais para dosagem da glicose liberada pelo rim direito. Como os estímulos da neoglicogênese renal são sistêmicos, conclui-se que o rim esquerdo também liberou glicose na mesma taxa que o rim direito. No entanto essa glicose liberada pelo rim esquerdo diluiu-se na circulação sistêmica de retorno ao coração e contribuiu para elevar a glicose dosada na aorta. É, pois, dedutível que a diferença entre as glicoses venosas e arteriais dosadas após a hepatectomia seja maior que aquela aferida neste experimento. Para medir tal diferença real, seria necessário realizar uma nefrectomia esquerda antes da hepatectomia total funcional, a fim de evitar essa interferência nas dosagens de glicose arterial.

Em resumo, os resultados desse estudo demonstram que, após a hepatectomia total funcional em coelhos anestesiados, curarizados e atropinizados, há uma queda acentuada nos níveis glicêmicos da aorta e da veia renal. Ocorrem alterações metabólicas que resultam em liberação de glicose na veia renal, porém esta é insuficiente para manter os níveis de glicemia sistêmicos. Esse mecanismo pode estar envolvido na manutenção dos níveis sistêmicos de glicemia no transplante de fígado em humanos, conforme recentes trabalhos vêm investigando. A partir desses resultados, é provável que, no futuro, cuidados especiais devam ser tomados quando do transplante de fígado em doentes com insuficiência renal, para evitar desarranjos glicêmicos severos (hipoglicemia) durante a fase anepática.

6. CONCLUSÕES

Com base no que foi discutido, conclui-se que:

1. Foi elaborado um modelo experimental em coelhos que mimetiza as fases hepática e anepática do transplante de fígado realizado em seres humanos.
2. As curvas de glicemia arterial e venosa apresentaram comportamento distinto nos dois grupos de animais estudados.
3. Nos animais submetidos à hepatectomia total funcional (grupo 2), houve redução significativa das glicemias arteriais e venosas ao longo do tempo.
4. Os animais submetidos à hepatectomia total (grupo 2) apresentaram dosagens de glicemia arterial mais elevadas que as dosagens venosas na fase hepática do experimento.
5. Após a hepatectomia total, ocorreu uma inversão das curvas glicêmicas. As dosagens de glicemia venosa passaram a ser mais elevadas. Essa inversão das curvas não pode ser atribuída exclusivamente à ação da noradrenalina e significa liberação renal de glicose.



7. SUMMARY

Nowadays liver transplantation is a well accepted procedure to treat terminal liver disease. After the liver removal takes place there is a period when the liver is absent. This period, which is called anhepatic period, lasts until the new liver is reperfused. During this period metabolic changes are frequent and hypoglycemia may hypothetically occurs. However, severe hypoglycemia almost never takes place. It must be stated that the source of endogenous glucose during the anhepatic period of liver transplantation remains unknown.

To study the possible sources of glucose in the absence of the liver -corresponding to the anhepatic phase of liver transplantation - an experimental model of total hepatectomy in anesthetized rabbits was created. To study the possibility of renal glucose release after hepatectomy the aorta (at the origin of the renal arteries) and the right renal vein were catheterized to measure glucose content. The initial experiments showed the necessity to give a vasoactive drug (norepinephrine) to avoid severe hypotension after liver removal. Thus, two groups of animals were created: group 1, with five animals, were given norepinephrine infusion without hepatectomy, and group 2, with fifteen animals received norepinephrine and were submitted to total hepatectomy.

The results showed that in group 2, before the hepatectomy, the levels of arterial glucose were higher than the venous ones, while, after the procedure the arterial levels became lower than the venous ones. That resulted in an inversion in the glucemic curves, as one can see in graphic 2. In group 1 the curves did not show this inversion.

We concluded that the inversion of curves observed in group 2 cannot be explained as just being due to norepinephrine infusion but represents renal glucose release after hepatectomy.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABER, G.M.; MORRIS, L.O.; HOUSLEY, E.- Gluconeogenesis by the human kidney. **Nature**, **212**:1589-90, 1966.
- ADROGUE, H.J.; COMSTOCK, J.P.; PENA, J.; HARTLEY, C.; ENTMAN, M.; RASHAD, M.N.- Large renal glucose production in conscious diabetics dogs without acidosis. **Diabetes**, **39** (suppl 1):24-A, 1990.
- AREM, R. -Hypoglycemia associated with renal failure. **Endocrin. Metab. Clin. North Am.**, **18**:103-21, 1989.
- ATCHISON, S.R.; RETTKE, S.R.; FROMME, G.A.; JANOSSY, T.A.; KUNKEL, S.E.; WILLIAMSON, K.R.; PERKINS, J.A.; RAKELA, J.- Plasma glucose concentrations during liver transplantation. **Mayo Clin. Proc.**, **64**:241-45, 1989.
- BELZER, F.O.; ASHBY, B.S.; DUNPHY, J.E.- 24 and 72 hour preservation of canine kidneys. **Lancet**, **2**:536, 1967.
- BERGMAN, H. & DRURY, D.R.- The relationship of kidney function to the glucose utilization of the extra abdominal tissues. **Am. J. Physiol.**, **124**:279-84, 1938.
- BISMUTH H.- The need for a consensus agreement on indications of liver transplantation. **Hepatology**, **20** (suppl 1):1.S-2S, 1994.
- BJÖRKMAN, O.; FELIG P.; WAHREN, J.- The contrasting responses of splanchnic and renal glucose output to gluconeogenesis substrates and to hypoglucagonemia in 60-h-fasted humans. **Diabetes**, **29**:610-16, 1980.
- BOREL, J.F.; FEURER, C.; MAGNÉE, C.; STÄHELIN, H.- Effects of the new antilymphocyte peptide ciclosporine A in animals. **Immunology**, **32**:1017, 1977.
- BURNS, K.F. & DeLANNOY, C.W. Jr.- Compendium of normal blood values of laboratory animals, with indications of variations. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, **8**: 429, 1966.

- CAHILL, G.F.; HERRERA, M.G.; MORGAN, A.P.; SOELDNER, J.S.; STEINKE, J.; LEVY, P.L.; REICHARD, G.A.; KIPNIS, D.M.-Hormone-fuel interrelationships during fasting. **J. Clin. Invest.**, **45**, No 11: 1751-69, 1966.
- CALNE, R.Y.; ALEXANDRE, G.P.; MURRAY, J.E.- A study of the effects of drugs in prolonged survival of homologous renal transplants in dogs. **Ann. NY Ac. Sci.**, **99**:743, 1962.
- CALNE, R.Y.; ROLLES, K.; WHITE, D.J.G.; THIRU, S; EVANS, D.B.; McMASTER, P.; DUNN, D.C.; CRADDOCK, G.N.; HENDERSON, R.G.; AZIZ, S.; LEWIS, P.- Cyclosporine A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases and 2 livers. **Lancet**, **17**:1033, 1979.
- CARMICHAEL, F.L.; LINDOP, M.J.; FARMAN, J.V.- Anesthesia for hepatic transplantation : Cardiovascular and metabolic alterations and their management. **Anesth. Analg.**, **68**:108-16, 1985.
- CERSOSIMO, E.; JUDD, R.L.; MILES, J.M.- Insulin regulation of renal glucose metabolism in conscious dogs. **J. Clin. Invest**, **93**:2584-89, 1994.
- CHERRINGTON, A.D.; WASSERMAN, D.H.; McGINESS, O.P.- Renal contribution to glucose production after a brief fast: fact or fancy. **J. Clin. Invest.**, **93**:2203, 1994.
- COHN, C. & KOLINSKY, M. - Effect of blood sugar levels and insulin lack on gluconeogenesis by the kidney of the dog. **Am. J. Physiol.**, **156**:345-48, 1948.
- COLLINS, G.M.; BRAVO-SHUGARMAN, M.; TERASAKI P.I.- Kidney preservation for transplantation: Initial perfusion and 30 hour ice storage. **Lancet** **2**:1219-22, 1969.
- DeWOLF, A.M.; KANG, Y.G.; TODO, S.; KAM, I.; FRANCAVILLA, A.J.; POLIMENO, L.; LYNCH, S.; STARZL, T.E.- Glucose metabolism during liver transplantation in dogs. **Anesth. Analg.**, **66**:76-80, 1987.

- FOSS, M.C.- **Metabolismo de carboidratos e lipídios e dieta hiperprotéica (livre de carboidrato).**- Ribeirão Preto, 1978. (Tese de Doutorado- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- Universidade de São Paulo).
- GUDER, W.G.; WAGNER, S.; WIRTHENSOHN, G.- Metabolic fuels along the nephron: Pathways and intracellular mechanism of interaction. **Kidney Int.**, **29**:41-45, 1989.
- HARRIS, R.A.- Carbohydrate Metabolism 1: Major metabolic pathways and there control. In: DEVLIN, T.M.- **Textbook of biochemistry with clinical correlations.** New York, Willey-Liss, 1997. p.267-333.
- HICKMAN, R.; BRACHER, M.; TYLER, M.; LOTZ, Z.; FOURIE, J.- Effect of total hepatectomy on coagulation and glucose homeostasis in the pig. **Dig. Dis. Sci.**, **37**, No.3: 328-34, 1992.
- IWATSUKI, S.; STARZL, T.E.; GORDON, R.D.; ESQUIVEL, C.O.; TZAKIS, A.G.; MAKOWKA, L.; MARSH, J.W.; KONERU, B.; STIEBER, A.; KLINTMALM, G.; HUSBERG, B.- Experience in 1,000 liver transplants under cyclosporine –steroid therapy: a survival report. **Transp. Proc.**, **20**(suppl. 1):498-504, 1988.
- JACOBY, I.; ROTH, H.P. (EDS).- NIH consensus development conference statement: Liver transplantation. (June 20-23), 1983. **Hepatology** **1**:107S, 1984.
- JOSEPH, S.E.; HEATON, N.; POTTER, D.; PERNET, A.; UMPLEBY, M.A.; AMIEL, A.S.- Renal glucose production compensates for the liver during the anhepatic phase of liver transplantation. **Diabetes**, **49**:450-56, 2000.
- KELLEY, D.; MITRAKOU, A.; MARSH, H.; SCHWENK, F.; BENN, J.; SONNENBERG, G.; ARCHANGELI, M.; AOKI, T.; SORENSEN, J.; BERGER, M.; SONKSEN, P.; GERICH, J.- Skeletal muscle glycolysis, oxidation and storage of an oral glucose load. **J. Clin. Invest.**, **81**:1563-71, 1988.
- KREBS, H.A.; HEMS, R.; GASCOYNE, T.- Renal gluconeogenesis IV- gluconeogenesis from substrate combinations. **Acta. Biol. Med. Germ.**, **11**:607-15, 1963.

- LAKE, J.R.- Changing indications for liver transplantation. *Gastroenterol. Clin. N. Am.*, **22**(2): 213-29, 1993.
- LEMIEUX, G.; ACHKAR, M.;VINAY, P.; GOUGOUX, A.- Characteristics of ammoniogenesis and gluconeogenesis by the diabetic kidney . In vitro studies in the rat. *Contr. Nephrol.*, **31**:23-28, 1982.
- LINDER, C.- **Metabolismo de carboidratos e lipídios no urubu (*Coragyps atratus* Bechts)- Botucatu, 1971** (Tese de Livre Docência- Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu- Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho).
- LIPMAN, N, S.; MARINI, R.P.; FLECKNELL, P.A.- Anesthesia and analgesia in rabbits. In: KOHN, D.F.; WIXSON, S.K.; WHITE, W.J.;BENSON, G.J.- **Anesthesia and analgesia in laboratory animals.** New York, Academic Press, 1997. p.205-232.
- LLACH, J. & RIMOLA, A. Indicações y selección de candidatos para trasplante hepático. In: Visa i Miracle, J.-**El trasplante hepático en el Hospital Clínic de Barcelona.** 1. ed. Barcelona, 1991; JR Prous Editores, 1991. p.17-25.
- MACHADO, M.C.C.; MONTEIRO DA CUNHA, J.E.; MARGARIDO, N.F.; BACHELLA, T.; GONÇALVES, L.; RAIÁ, A.A.- Hyperosmolar coma associated with clinical liver transplantation. *Int. Surg.*, **61**(6-7):368-69, 1976.
- MALLET, S.V.; KANG, Y.; FREEMAN, J.A.; AGGARWAL, S.; GASIOR, T.; FORTUNATO, F.L.- Prognostic significance of blood glucose levels during liver transplantation. *Anesthesiology*, **67** No. 3A:A313, 1987.
- MARI, A.; WAHREN, J.; DeFRONZO, R.A.; FERRANNINI, E.- Glucose absorption and production following oral glucose: comparison of compartmental and arteriovenous - difference methods. *Metabolism*, **43** (11):1419-25,1994.
- MEYER, C.; DOSTOU, J.M.; GERICH, J.E.- Role of the human kidney in glucose counterregulation. *Diabetes*, **45**(5):943-48, 1999.

- MONTEIL, C.; FILLASTRE, J.P.; MORIN, J.P.- Expression and subcellular distribution of phosphoenolpyruvate carboxykinase in primary cultures of rabbit kidney proximal tubule cells: comparative study with renal and hepatic PEPCK in vivo. **Biochim. Biophys. Acta**, 13 1243(3):437-45, 1995.
- NISSIM, I.; NISSIM, I.; YUKDOFF, M.- Adaptation of renal tricarboxylic acid cycle metabolism to various acid-base states: study with [3-13 C, 5-15N]glutamine. **Miner Electrolyte Metab.**, 17(1):21-31, 1991.
- O'BRIEN, R.M.; PRINTZ, R.L.; HALMI, N.; TIESINGA, J.J.; GRANNER, D.K.- Structural and functional analysis of the human PEPCK gene promoter. **Biochim. Biophys. Acta**, 27, 1264(3):284-88, 1995.
- PALNAES-HANSEN, C.; BOESBY, S.; KIRKEGAARD, P.- Glucose homeostasis after ortotopic liver transplantation in the pig. **Transplantation** 51, No.3: 587-89, 1991.
- RIMOLA, A. & CIRERA, I.- Protocolo de selecció de pacients candidats a trasplante hepàtic. Unidad de Hígado y Trasplantes. Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Barcelona. [no prelo].
- RODÉS J. ¿Que ha significado el trasplante hepático en hepatología? In: Visa i Miracle, J.- **El trasplante hepático en el Hospital Clínic de Barcelona**. 1. ed. Barcelona, 1991; JR Prous Editores, 1991. p. 5-7.
- SAAD, M.J.A.; PIMENTA, W.P.; PACOLLA, G.M.G.F.; PICCINATO, C.E.; MOREIRA, A.C.; FOSS, M.C. - Effect of glucose ingestion on peripheral glucose metabolism in normal man. **Diab. Met.**, 15:5-10, 1989.
- SCHOOLWERTH, A.C.; SMITH, B.C.; CULPEPPER, R.M.- Renal gluconeogenesis. **Miner Electrolyte Metab.**, 14(6):347-61, 1988.
- SCHOOLWERTH, A.C.; deBOER, P.A.J.; MOORMAN, A.F.M.; LAMERS, W.H.- Changes in mRNAs for enzymes of glutamine metabolism in kidney and liver during ammonium chloride acidosis. **Am. J. Physiol.**, 267(36): F400-6, 1994.

- SIEGEL, S. - **Estatística não-paramétrica (para as ciências do comportamento)**. São Paulo, McGraw- Hill Ltda, 1975. 350p.
- SOUTHARD, J.H.; BELZER, F.O.- The University of Wisconsin organ preservation solution: Components, comparisons and modifications. **Transplant Rev.** 7:176, 1993.
- STARZL, T.E.; MARCHIORO, M.D.; VON KAULLA, K.N.; HERMANN, G.; BRITTAIN, R.S.; WADDELL, W.R.- Homotransplantation of the liver in humans. **Surg. Gyn. Obst.**, 117(6):659-76, 1963.
- STOELTING, R.K.- Sympathomimetics. In: **Pharmacology and physiology in anesthetic practice**. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1987. p.251-268.
- STUMVOLL, M.; CHINTALAPUDI, U.; PERRIELO, G.; WELLE, S.; GUTIERREZ, O.; GERICH, J.- Uptake and release of glucose by the human kidney. Postabsorptive rates and responses to epinephrine. **J. Clin. Invest.**, 96(5):2528-33, 1995.
- STUMVOLL, M.; MEYER, C.; PERRIELO, G.; KREIDER, M.; WELLE, S.; GERICH, J.- Human kidney and liver gluconeogenesis: evidence for organ substrate selectivity. **Am. J. Physiol.**, 274(5Pt1):E 817-26, 1998.
- STUMVOLL, M.- The human kidney as an important producer of glucose. **Med. Klin.**, 15, 93(5):300-06, 1998.
- SUCKOW, M.A.; DOUGLAS, F.A.- **The laboratory rabbit**. Boca Raton, New York, CRC Press, 1997. 145p.
- TULLOCK, W.C.; PINSKY, M.R.; SHAW, B.; MARTIN, D.J.- Metabolic changes during the anhepatic phase of liver transplantation. **Anesthesiology**, 61, No 3A:A271, 1984.
- WIRTHENSOHN, G. & GUDER, W.G.- Renal substrate metabolism. **Physiol. Rev.**, 66:469-497, 1986.

9. ANEXOS

Ficha individual de controle de experimento.

animal no. data:
sexo: m
peso:
sorteio do grupo: hepaté com nora () nora pura ()
drogas utilizadas:
atropina:
anestésico geral: EV IM
anestésico local:
curare:
noradrenalina: ml diluídos em mls de SF 0,9% taxa de infusão
 pré-hepaté
 pós-hepaté
líquidos infundidos: SF ml em minutos
dissecção da aorta: sangramento estimado
dissecção da veia renal: sangramento estimado
aspecto do fígado:
aspecto do rim:
PAM de início do procedimento:
débito urinário:
manobra de Pringle:
queda da PAM após clampeamento:
perfusão do parênquima hepático pós Pringle:
aumento de infusão de NAdr: de μ gotas/min para μ gotas/min.
total de líquido infundido
PAM no final do procedimento:

Esquema da colheita de amostras dos animais do grupo 1.

(animais submetidos apenas à ação de NAdr).

Tempos	Significado
-15	Material colhido no início do procedimento
-10	Material colhido 5 min após o início
-5	Material colhido 10 min após o início
5	Material colhido 20 min após o início
10	Material colhido 25 min após o início
15	Material colhido 30 min após o início
25	Material colhido 40 min após o início
35	Material colhido 50 min após o início
45	Material colhido 60 min após o início
55	Material colhido 70 min após o início

Legenda

“Vermelho”: Equivale à taxa de infusão de NAdr de 0,03µg/ml/min

“Cor Negra”: Equivale à taxa de infusão de NAdr de 0,10µg/ml/min

Esquema da colheita de amostras dos animais do grupo 2.

(animais submetidos à hepatectomia total e ação de NAdr).

Tempos	Significado
-15	Material colhido 15 minutos antes da hepatectomia
-10	Material colhido 10 minutos antes da hepatectomia
-5	Material colhido 5 minutos antes da hepatectomia
5	Material colhido 5 minutos após a hepatectomia
10	Material colhido 10 minutos após a hepatectomia
15	Material colhido 15 minutos após a hepatectomia
25	Material colhido 25 minutos após a hepatectomia
35	Material colhido 35 minutos após a hepatectomia
45	Material colhido 45 minutos após a hepatectomia
55	Material colhido 55 minutos após a hepatectomia

Legenda

“Vermelho”: Equivale à taxa de infusão de NAdr de 0,03µg/ml/min. e presença do fígado

“Negro”: Equivale à taxa de infusão de NAdr de 0,10µg/ml/min. e ausência do fígado.

Dosagens das glicemias arteriais dos animais do grupo 1 e suas respectivas diferenças percentuais nos diversos tempos estudados.

Tempos	-15	-10	delta%	-5	delta%	5	delta%	10	delta%	15	delta%	25	delta%	35	delta%	45	delta%	55	delta%
Animal																			
1	347	350	0,86	333	-4,03	280	-19,31	159	-54,18	282	-18,73	290	-16,43	234	-32,56	222	-36,02	232	-33,14
2	372	364	-2,15	352	-5,38	440	18,28	457	22,85	418	12,37	405	8,87	372	0,00	330	-11,29	332	-10,75
3	423	487	15,13	495	17,02	523	23,64	524	23,88	510	20,57	555	31,21	532	25,77	539	27,42	558	31,91
4	256	357	39,45	360	40,63	380	48,44	421	64,45	465	81,64	504	96,88	546	113,28	519	102,73	578	128,78
5	480	553	15,21	511	6,46	557	16,04	600	25,00	642	33,75	648	35,00	657	36,88	631	31,46	684	42,50

Dosagens das glicemias venosas dos animais do grupo 1 e suas respectivas diferenças percentuais nos diversos tempos estudados.

Tempos	-15	-10	delta%	-5	delta%	5	delta%	10	delta%	15	delta%	25	delta%	35	delta%	45	delta%	55	delta%
Animal																			
1	353	302	-14.45	320	-9.35	315	-10.76	280	-20.68	300	-15.01	230	-34.84	253	-28.33	223	-36.83	189	-46.46
2	335	342	2.09	361	7.76	434	29.55	404	20.60	385	14.93	364	8.66	354	5.67	304	-9.25	297	-11.34
3	474	483	1.90	481	1.48	522	10.13	506	6.75	531	12.03	516	8.86	520	9.70	547	15.40	540	13.92
4	328	331	0.91	361	10.06	432	31.71	425	29.57	489	49.09	503	53.35	544	65.85	559	70.43	526	60.37
5	454	452	-0.44	534	17.62	528	16.30	567	24.89	608	33.92	616	35.68	614	35.24	597	31.50	659	45.15

Dosagens das glicemias arteriais dos animais do grupo 2 e suas respectivas diferenças percentuais nos diversos tempos estudados.

Tempos	-15	-10	delta%	-5	delta%	5	delta%	10	delta%	15	delta%	25	delta%	35	delta%	45	delta%	55	delta%
Animal																			
1	138	190	20,25	184	16,46	128	-18,99	129	-18,35	113	-28,48	131	-17,09	92	-41,77	88	-44,30	78	-50,63
2	197	204	3,55	253	28,43	117	-40,61	173	-12,18	132	-32,99	142	-27,92	110	-44,16	78	-60,41	64	-67,51
3	93	262	181,72	282	203,23	262	181,72	240	158,06	263	182,80	175	88,17	121	30,11	135	45,16	124	33,33
4	305	274	-10,16	310	1,64	239	-21,64	199	-34,75	163	-46,56	150	-50,82	155	-49,18	132	-56,72	112	-63,28
5	129	167	29,46	161	24,81	113	-12,40	102	-20,93	84	-34,88	80	-37,98	75	-41,86	70	-45,74	60	-53,49
6	305	306	0,33	310	1,64	239	-21,64	199	-34,75	163	-46,56	150	-50,82	155	-49,18	145	-52,46	140	-54,10
7	324	330	1,85	329	1,54	220	-32,10	190	-41,36	154	-52,47	146	-54,94	134	-58,64	98	-69,75	84	-74,07
8	352	295	-16,19	383	8,81	395	12,22	333	-5,40	308	-12,50	285	-19,03	298	-15,34	290	-17,61	270	-23,30
9	350	304	-13,14	419	19,71	311	-11,14	255	-27,14	214	-38,86	146	-58,29	125	-64,29	120	-65,71	114	-67,43
10	349	362	3,72	358	2,58	283	-18,91	244	-30,09	242	-30,66	198	-43,27	167	-52,15	148	-57,59	142	-59,31
11	495	441	-10,91	481	-2,83	452	-8,69	360	-27,27	356	-28,08	320	-35,35	287	-42,02	263	-46,87	323	-34,75
12	452	469	3,76	476	5,31	405	-10,40	342	-24,34	310	-31,42	253	-44,03	241	-46,68	225	-50,22	192	-57,52
13	270	279	3,33	275	1,85	236	-12,59	192	-28,89	175	-35,19	145	-46,30	127	-52,96	101	-62,59	91	-66,30
14	264	307	16,29	296	12,12	204	-22,73	182	-31,06	163	-38,26	146	-44,70	140	-46,97	124	-53,03	107	-59,47
15	237	248	4,64	275	16,03	226	-4,64	190	-19,83	168	-29,11	139	-41,35	124	-47,68	110	-53,59	94	-60,34

Dosagens das glicemias venosas dos animais do grupo 2 e suas respectivas diferenças percentuais nos diversos tempos estudados.

Tempos	-15	-10	delta%	-5	delta%	5	delta%	10	delta%	15	delta%	25	delta%	35	delta%	45	delta%	55	delta%
Animal																			
1	114	154	35,09	181	58,77	127	11,40	144	26,32	150	31,58	133	16,67	91	-20,18	86	-24,56	75	-34,21
2	190	138	-27,37	217	14,21	106	-44,21	185	-2,63	139	-26,84	161	-15,26	160	-15,79	126	-33,68	73	-61,58
3	72	262	263,89	220	305,56	208	188,89	274	280,56	279	287,50	203	181,94	136	88,89	146	102,78	135	87,50
4	301	220	-36,91	220	-26,91	228	-24,25	206	-31,56	198	-34,22	159	-47,18	162	-46,18	139	-53,82	122	-59,47
5	123	146	18,70	131	6,50	121	-1,63	93	-24,39	94	-23,58	93	-24,39	80	-34,96	78	-36,59	67	-45,53
6	301	302	0,33	323	7,31	228	-24,25	206	-31,56	198	-34,22	159	-47,18	152	-49,50	150	-50,17	149	-50,50
7	329	318	-3,34	346	5,17	188	-42,86	128	-61,09	157	-52,28	149	-54,71	138	-58,05	99	-69,91	90	-72,64
8	256	149	-41,80	300	17,19	283	10,55	398	55,47	358	39,84	379	48,05	392	53,13	385	50,39	299	16,80
9	341	270	-20,82	357	4,69	300	-12,02	296	-13,20	223	-34,60	207	-39,30	150	-56,01	131	-61,58	129	-62,17
10	335	361	7,76	353	5,37	274	-18,21	265	-20,90	297	-11,34	246	-26,57	205	-38,81	183	-45,37	155	-53,73
11	479	454	-5,22	484	1,04	474	-1,04	370	-22,76	357	-25,47	335	-30,06	297	-38,00	265	-44,68	340	-29,02
12	452	454	0,44	449	-0,66	443	-1,99	418	-7,52	355	-21,46	339	-25,00	256	-43,36	237	-47,57	199	-55,97
13	259	269	3,86	270	4,25	227	-12,36	225	-13,13	193	-25,48	168	-35,14	139	-46,33	116	-55,21	99	-61,78
14	225	267	18,67	298	32,44	259	15,11	196	-12,89	160	-28,89	166	-26,22	156	-30,67	136	-39,56	102	-54,67
15	224	234	4,46	278	24,11	164	-26,79	185	-17,41	178	-20,54	179	-20,09	145	-35,27	113	-49,55	110	-50,89

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE