

Lipoperoxidação no sangue de ratos com síndrome Hepatopulmonar

DARLAN PASE DA ROSA¹

SILVIA BONA²

RAFAEL VERCELINO³

JULIANA TIEPPO³

ALEXANDRE SIMÕES DIAS⁴

NORMA ANAIR POSSA MARRONI⁵

RESUMO

A síndrome hepatopulmonar (SHP) é caracterizada pela disfunção hepática e a presença de dilatações vasculares intrapulmonares, com alterações da difusão de gases, podendo ser demonstrado no modelo experimental de ligadura de ducto biliar (LDB). O objetivo foi avaliar o potencial antioxidante da N-acetilcisteína (NAC) no sangue de ratos cirróticos com SHP. Foram utilizados 20 ratos machos Wistar, divididos em 4 grupos: Sham operated (SO) + NaCl, LDB + NaCl, SO + NAC e LDB + NAC. Foi avaliado as aminotransferases, gasometria arterial, lipoperoxidação e histologia. Os dados obtidos sugerem que a NAC na SHP restaura a função hepática, atenua a lipoperoxidação no sangue e reduz a vasodilatação pulmonar.

Palavras-chaves: estresse oxidativo; ligadura de ducto biliar; síndrome hepatopulmonar; N-acetilcisteína.

¹ Acadêmico do Curso da Biomedicina/ULBRA – BIC/FAPERGS

² Acadêmica do Curso de Biologia/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

³ Doutorando(a) do Pós-Graduação em Fisiologia/UFRGS

⁴ Professor do Curso de Fisioterapia/IPA e Coordenador do

Mestrado de Inclusão e Reabilitação/IPA

⁵ Professora - Orientadora do Curso de Biologia/ULBRA e do Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular/ULBRA e Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA (nmarroni@terra.com.br)

ABSTRACT

The hepatopulmonary syndrome (HPS) is characterized by hepatic dysfunction and a presence of dilated pulmonary vessels, with alterations in air diffusion that can be demonstrated in the experimental model of bile duct ligation (BDL). The aim is to evaluate the antioxidant potential of the N-acetylcysteine in blood of cirrhotic rats with HPS. We used 20 male rats Wistar divided in 4 groups: Sham operated (SO) + NaCl, BDL + NaCl, SO + NAC and BDL + NAC. We evaluated aminotransferases, arterial gasometry, lipoperoxidation and histology. The obtained data suggest that the used of the NAC in HPS restaures hepatic function, attenuates blood lipoperoxidation and reduced the pulmonary vasodilatation.

Key words: oxidative stress; bile duct ligation; Hepatopulmonary syndrome; N-acetylcysteine.

INTRODUÇÃO

A presença de alterações na difusão de gases e nas trocas gasosas são sinais comuns nos pacientes portadores de hepatopatias crônicas. As anormalidades pulmonares apresentadas são: dilatações vasculares intrapulmonares; diminuição da oxigenação arterial pressão parcial de oxigênio (PaO₂) < 70 mm Hg e/ou gradiente alvéolo-arterial de oxigênio (P(A-a)O₂) > 20 mm Hg, em ar ambiente; e a presença de doença hepática e/ou hipertensão portal, as quais caracterizam a síndrome hepatopulmonar (SHP) (KROWKA, DICKSON & CORTESE, 1993). O mecanismo da hipoxemia na SHP é representado pela combinação dos seguintes fatores: shunt intrapulmonar, desequilíbrio na relação ventilação/perfusão (VA/Q), e baixa difusão do oxigênio, devido à disseminada vasodilatação intrapulmonar, mesmo em tecidos pulmonares normais (RODRIGUEZ-ROISIN et al., 1987).

O modelo de cirrose biliar secundária por ligadura de ducto biliar (LDB) desenvolve as alterações pulmonares que caracterizam a SHP (KOUNTOURAS, BILLING & SCHEUER, 1984; CHANG & OHARA, 1994), as quais estão associadas ao estresse oxidativo no tecido

pulmonar, o qual é o melhor modelo experimental para o estudo das complicações pulmonares decorrentes das hepatopatias crônicas (FALLON, 2005).

A vasodilatação pulmonar observada no modelo de LDB está relacionada ao aumento do óxido nítrico (NO) pulmonar, o qual é um potente vasodilatador. Em 45% a 75 % dos animais com LDB há translocação bacteriana, favorecendo a entrada de citocinas e endotoxinas na circulação pulmonar. Isso gera um acúmulo de macrófagos na região, os quais secretam citocinas e NO no endotélio pulmonar, levando a uma vasodilatação (FALLON et al., 1997). Em grandes quantidades, essas citocinas e o NO tornam-se tóxicos e uma fonte altamente oxidante. Células fagocitárias que geram o radical ânion superóxido (O₂⁻), que é um radical livre capaz de oxidar a membrana plasmática, produzem grande quantidade de espécies ativas de oxigênio (EAO), e quando combinadas com NO podem gerar um potente oxidante celular, que é o peroxinitrito (ONOO⁻) (RABILLER et al., 2002).

O sistema antioxidante do capaz de neutralizar ou inibir as substâncias que possuem um potencial oxidativo. O sistema antioxidante enzimático, que inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD),

catalase (CAT) e o sistema glutaciona é a primeira linha de defesa celular contra o dano oxidativo. A linha de defesa secundária é composta pelos antioxidantes não enzimáticos que são a glutaciona (GSH), o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol (vitamina E) e os flavonóides (THANNICKAL & FANBURG, 2000).

A N-aceticisteína (NAC) é um composto tiólico que contém um grupo sulfidril na sua estrutura química, que lhe garante propriedades antioxidantes e antiinflamatórias, sendo aplicada no tratamento de doenças congestivas e obstrutivas pulmonares. É amplamente utilizada em ensaios clínicos e em modelos experimentais pois atua na redução da exacerbação existente na doença pulmonar obstrutiva crônica severa, bem como na intoxicação por acetoaminofen e em modelos experimentais de cirrose e hipertensão portal (ZAFARULLAH et al., 2003.). O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial antioxidante da NAC em ratos cirróticos induzidos pela LDB como modelo de SHP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 ratos machos Wistar, com peso médio de 250 gramas, provenientes do Centro de Criação de Animais de Laboratório da UFRGS (CREAL), mantidos em caixas plásticas de 47x34x18cm forradas com maravalha, em ciclo de 12h claro/escuro e temperatura entre 20 e 25°C. A água e a ração foram administradas livremente. Todos os experimentos foram de acordo com o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GOLDIN & RAYMUNDO, 1997).

A indução da cirrose biliar secundária foi realizada através do modelo de ligadura de ducto

biliar (LDB) segundo Kontouras et al., 1985. Os animais foram randomizados e divididos em 4 grupos: grupo *sham operated* (SO) + NaCl (n=5), submetido à simulação da ligadura do ducto biliar e solução salina; grupo – LDB + NaCl (n=5), submetido à ligadura do ducto biliar e solução salina; grupo – SO + NAC (n=5), = submetido à simulação da ligadura do ducto biliar e NAC; grupo – LDB + NAC (n=5), submetido à ligadura do ducto biliar e NAC.

Os animais foram anestesiados mediante a administração de fármacos anestésicos, sendo realizada laparotomia ventral média, dissecação do ducto biliar comum na altura da desembocadura dos ductos pancreáticos e ligadura por meio de dois nós com posterior secção entre eles. A NAC (Sigma, St. Louis, MO, USA) foi administrada por via intraperitoneal (i.p.), com uma dose de 10mg/Kg, dissolvida em 0,6 mL de NaCl 0,9%, a partir do 14º dia de experimento, uma vez ao dia. No 28º dia, os animais foram anestesiados e mortos por exsanguinação

No 28º dia foi retirado sangue do seio retro ocular para avaliação das enzimas séricas Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e análise da lipoperoxidação. A seguir, foi realizada tricotomia da região abdominal e laparotomia ventral média para coleta de sangue da artéria aorta abdominal para determinação da gasometria arterial por meio do analisador ABL 700 (RADIOMETER COPENHAGEM) pelo método de eletroiontoforese. Os testes laboratoriais foram realizados no Laboratório Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os demais procedimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Hepatologia Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do

Sul no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA-UFRGS) e Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

Foi determinada a lipoperoxidação através do método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. (TBA-RS). A técnica TBA-RS consiste no aquecimento do material na presença de ácido tiobarbitúrico e conseqüente formação de um produto de coloração róseo, medido em espectrofotômetro a 355nm. O aparecimento de coloração ocorre devido à presença do malondialdeído e outras substâncias provenientes da peroxidação lipídica no material biológico. Inicialmente foi preparado a solução de t-BOOH 1 mM. Em seguida foi misturado 100 uL de glóbulos vermelhos lavados com 900 uL de soro fisiológico e foi acrescentado 25 uL da solução de t-BOOH 1 mM. Foi preparado um branco com 1 mL de soro fisiológico mais 25 uL da solução de t-BOOH 1 mM. Foram incubados a 37°C por 30 minutos, foi adicionado 1 mL de TCA (10%) e agitado bem. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos. Foi retirado 1,5 mL do sobrenadante e adicionado 1 mL de TBA (0,67%). Foi incubado por 15 minutos a 100°C. Após, o material foi esfriado em gelo e este utilizado para leitura no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 535 nm. Os resultados foram expressos em nmoles de TBA-RS/mg de Hb (OHKAWA, OHISHI & YAGI, 1979).

O tecido pulmonar foi coletado e mantidos por 12 h em solução de formol à 10%, e,

posteriormente, transferidas para álcool 70% e foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina. O exame anatomopatológico foi realizado no laboratório de patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre por um avaliador que não possuía conhecimento dos grupos.

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da média (DPM). O teste utilizado para a análise de variância dos resultados será o de ANOVA seguido do teste de Student-Newman-Keuls. Foi considerado estatisticamente significativo quando o nível de significância era de pelo menos 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Na Tabela 1, observamos os valores das enzimas séricas e a relação hepatossomática e pneumossomática dos diferentes grupos. Houve um aumento significativo nas enzimas AST, ALT nos animais do grupo LDB+NaCl em relação ao grupo SO+NaCl. No grupo LDB+NAC, houve diminuição dessas enzimas em relação ao grupo LDB+NaCl. Também observou-se um aumento de 113% na relação hepatossomática no grupo LDB+NaCl e 24% no grupo LDB+NAC comparados com o grupo SO+NaCl. Na relação pneumossomática, o grupo LDB+NaCl apresentou aumento significativo de 41% em relação ao grupo SO+NaCl. O grupo LDB+NAC não apresentou diferença em relação aos demais grupos.

Tabela 1. Valores das enzimas séricas e da relações hepatossomática e pneumossomática.

Enzimas Séricas	Grupos Experimentais			
	SO+NaCl	LDB+NaCl	SO+NAC	LDB+NAC
AST (U/L)	98,35 ± 13,53	674,83 ± 38,09 ^a	85,9 ± 7,4	371,50 ± 63,8 ^{a,b}
ALT (U/L)	56,71 ± 4,55	158,00 ± 8,80 ^a	48,0 ± 2,8	103,80 ± 21,6 ^{a,b}
Relação				
hepatossomática (%)	2,83 ± 0,11	6,04 ± 0,47 ^a	2,97 ± 0,20	3,51 ± 0,30 ^{a,b}
pneumossomática (%)	1,25 ± 0,05	1,77 ± 0,04 ^a	1,22 ± 0,05	1,24 ± 0,07 ^b

AST: Aspartato Aminotransferase, ALT: Alanina Aminotransferase. Média ± DPM.
a – LDB+NaCl vs. SO+NaCl; SO+NAC e LDB+NAC (p<0.001)
b – LDB+NAC vs. SO+NaCl; SO+NAC (p<0.01)

Na Tabela 2, verificamos os valores referentes à gasometria arterial, sendo avaliado a pressão parcial de oxigênio (PO₂), a pressão parcial de dióxido de carbono (PCO₂), a saturação da hemoglobina (SatO₂/Hb) em todos os grupos.

Houve diminuição de 50% na PO₂ no grupo LDB+NaCl quando comparado ao grupo SO+NaCl. Já no grupo LDB+NAC houve um aumento de 61% na PO₂ quando comparado ao

grupo LDB+NaCl. A PCO₂ aumentou 54% no grupo LDB+NaCl quando comparado com o grupo SO+NaCl e houve diminuição de 20% no grupo LDB+NAC quando comparado com o grupo LDB+NaCl. Na avaliação da saturação da hemoglobina (SatO₂/Hb), observamos uma diminuição no grupo LDB+NaCl em relação ao grupo SO+NaCl e uma aumento no grupo LDB+NAC em relação ao grupo LDB+NaCl.

Tabela 2. Valores de gasometria arterial.

	Grupos Experimentais			
	SO+NaCl	LDB+NaCl	SO+NAC	LDB+NAC
PO ₂ (mmHg)	93,33 ± 8,92	47,46 ± 4,51 ^a	94,00 ± 4,67	76,42 ± 3,34
PCO ₂ (mmHg)	45,33 ± 4,00	70,17 ± 3,18 ^a	51,33 ± 7,32	55,48 ± 3,02
SatO ₂ /Hb	95,83 ± 0,75	54,71 ± 5,75 ^a	92,50 ± 3,02	87,67 ± 1,28

PO₂: Pressão Parcial de Oxigênio; PCO₂: Pressão Parcial de Dióxido de Carbono; SatO₂/Hb: Saturação de Oxigênio. Média ± DPM.
a – LDB+NaCl vs. SO+NaCl, SO+NAC e LDB+NAC (p<0.01).

Ao avaliar a lipoperoxidação no sangue através do TBARS (Figura 1), houve um aumento no grupo LDB+NaCl em relação aos demais

grupos. No grupo LDB+NAC, observaram-se valores de TBARS próximos aos grupos SO+NaCl e SO+NAC.

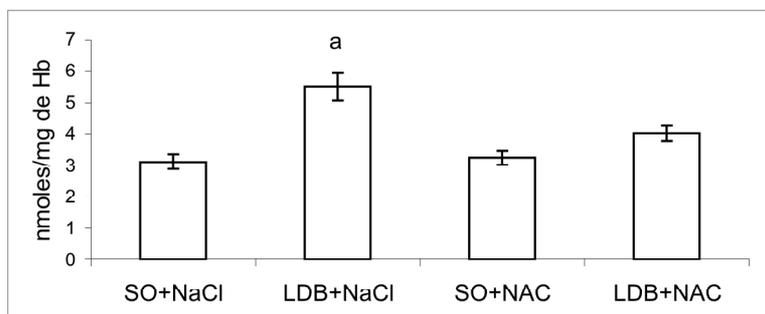


Figura 1 - Valores médios de TBARS no sangue dos diferentes grupos experimentais. Média \pm DPM.
a - LDB+NaCl vs. SO+NaCl, SO+NAC e LDB+NAC ($p < 0.01$)

Na Figura 2, a fotomicrografia do pulmão de animais do grupo SO+NaCl avaliada por hematoxilina-eosina, evidenciou uma arquitetura

normal do parênquima pulmonar e o diâmetro normal dos vasos ($82,81\mu\text{m}$).

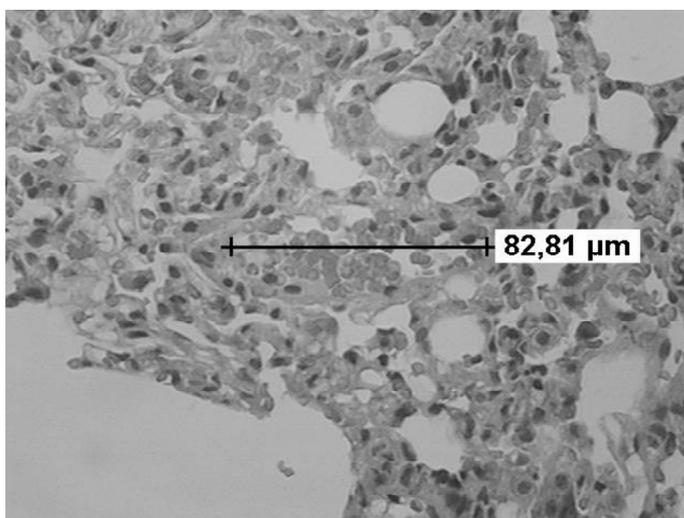


Figura 2 - Fotomicrografia de pulmão de animais do grupo SO+NaCl com coloração de hematoxilina-eosina mostrando a estrutura normal do parênquima pulmonar (100x).

A Figura 3 mostra a fotomicrografia do pulmão dos ratos LDB+NaCl por hematoxilina-eosina.

Observam-se aumento do diâmetro do vaso e estase sangüínea no seu interior ($116,14\mu\text{m}$).

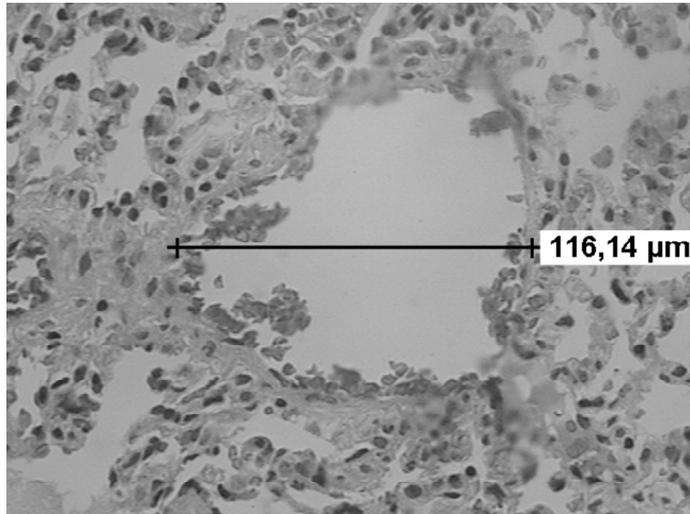


Figura 3 - Fotomicrografia de pulmão de animais do grupo LDB+NaCl com coloração de hematoxilina-eosina mostrando alterações no parênquima mostrando vasodilatação e estase sangüinea (100x).

A Figura 4 mostra a fotomicrografia do pulmão dos ratos do grupo SO+NAC por hematoxilina-eosina. Observam-se uma arqui-

tetura normal do parênquima pulmonar e o diâmetro normal dos vasos ($81,63\mu\text{m}$), semelhante ao grupo SO+NaCl.

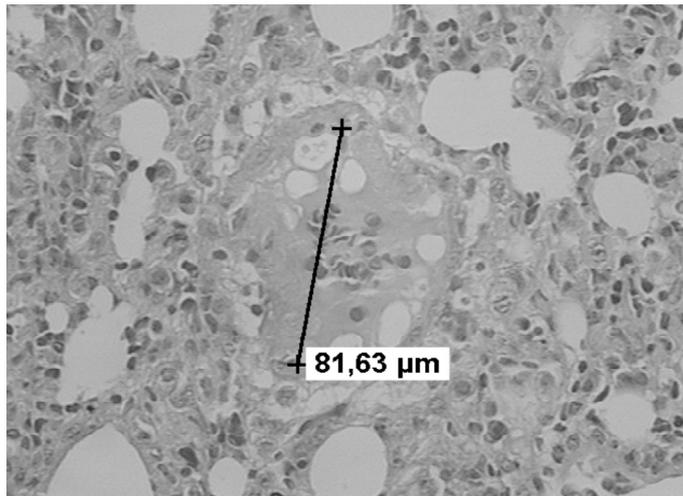


Figura 4 - Fotomicrografia de pulmão de animais do grupo SO+NAC com coloração de hematoxilina-eosina (100x).

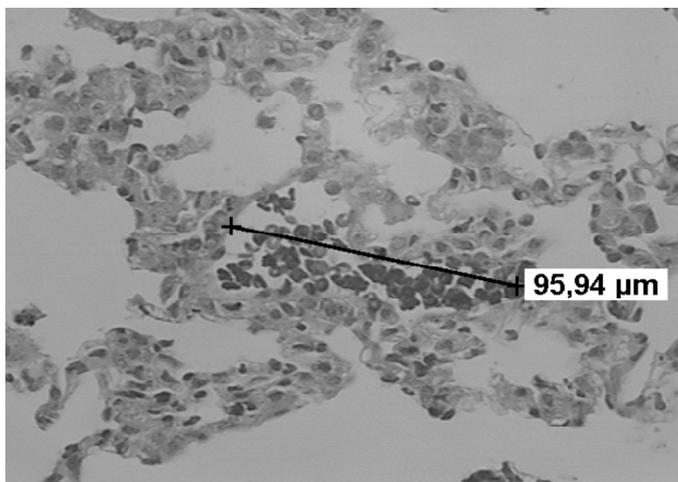


Figura 5 - Fotomicrografia de pulmão de animais do grupo LDB+NAC com coloração de hematoxilina-eosina (100x).

Na Figura 5, a fotomicrografia do pulmão de animais do grupo LDB+NAC avaliado por hematoxilina-eosina, evidenciou uma arquitetura próxima do normal do parênquima pulmonar e o diâmetro normal dos vasos (95,94 μm).

DISCUSSÃO

A associação entre a doença hepática e as anormalidades vasculares pulmonares é reconhecida há mais de 100 anos. A síndrome hepatopulmonar é uma complicação causada pela cirrose e ou pela hipertensão portal, que se caracteriza pela presença de dilatações vasculares intrapulmonares que levam à alterações na difusão arterial dos gases (FALLON, 2005). A ligadura de ducto biliar em ratos desenvolve cirrose biliar secundária (KONTOURAS et al., 1984), é o modelo que possui as principais características da SHP onde o estresse oxidativo pode ser o principal responsá-

vel (TIEPPO et al., 2005). A NAC, um mucolítico de propriedade antioxidante, tem sido utilizado para atenuar o dano pulmonar induzido pela bleomicina em ratos o qual melhora a proteção antioxidante (CORTIJO et al., 2004). As propriedades antioxidantes da NAC interferem na redução do estresse oxidativo, encontrado na gênese da doença pulmonar obstrutiva crônica (DEKHUIJZEN, 2005). Em modelos animais, parece reduzir a resposta inflamatória aos antígenos, e está sendo aplicado em animais com asma brônquica (BLESA et al., 2003).

Em nosso estudo encontramos um comprometimento do tecido hepático semelhantes a outros modelos que desenvolvem cirrose (PASTOR et al., 1997; PERES et al., 2000; MONTERO et al., 2005). Os animais com LDB que receberam a NAC tiveram uma diminuição na atividade das enzimas séricas avaliadas (AST, ALT), demonstrando o efeito hepatoprotetor deste medicamento. Estes achados vão ao encontro dos valores apresentados por Pastor et al., 1997, no qual utilizaram o mesmo

modelo experimental. Em modelos de cirrose hepática induzida por LDB ou por uso de tetracloreto de carbono (CCl_4) tratados com flavonóides, observaram-se efeitos similares na avaliação destas enzimas (PAVANATO et al. 2003).

Na relação hepatossomática e pneumossomática, observamos um aumento significativo do grupo LDB+NaCl em relação aos demais grupos. O aumento na relação hepatossomática pode ser em resposta ao dano hepatocelular agudo e à fibrogênese progressiva presente nestes animais no espaço intersticial (CHANG & OHARA, 1994). Após a administração da NAC, provavelmente ocorreu uma diminuição na permeabilidade vascular e uma diminuição na pressão de filtração vascular pulmonar, reduzindo assim, a relação pneumossomática nos animais com LDB+NAC.

Na SHP há uma vasodilatação pré-capilar no leito vascular pulmonar próximo às áreas de trocas gasosas, que permite uma diminuição nas concentrações de gases arteriais (LIMA, MARTINELLI & FRANÇA, 2004). Na gasometria, observamos uma diminuição significativa na pressão parcial de oxigênio arterial (PO_2) e um aumento na pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) no grupo LDB+NaCl, demonstrando uma alteração na difusão de gases neste modelo. Esta hipoxemia pode estar relacionada à vasodilatação intrapulmonar ocasionada pelo aumento na produção de substâncias vasodilatadoras no endotélio pulmonar, principalmente o NO (NUNES et al., 2001).

A saturação da hemoglobina (SatO_2/Hb) mostrou-se diminuída no grupo LDB+NaCl em relação aos grupos SO+NaCl e SO+NAC, podendo estar associado ao aumento na PCO_2 e favo-

recendo um desvio da curva de dissociação da hemoglobina para a direita. Este fenômeno diminui a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e determina uma dessaturação da mesma (WEST, 2000). Os animais LDB+NAC apresentaram uma PO_2 e SatO_2/Hb mais próximos ao grupo SO+NaCl.

A presença de citocinas na circulação pulmonar promove o estresse oxidativo através da formação do radical ânion superóxido e pelo aumento da lipoperoxidação. No grupo LDB+NAC, observamos que os valores de lipoperoxidação permaneceram próximos aos do grupo SO+NaCl. A NAC, por apresentar efeitos antioxidantes, inibe a liberação dos fatores quimiotáticos dos neutrófilos, reduzindo o infiltrado. A NAC protegeu o tecido pulmonar do aumento da lipoperoxidação, provavelmente por atenuar a translocação bacteriana do trato gastrointestinal para o pulmão. Isso ocorre, possivelmente, devido ao papel da NAC que inibe as células inflamatórias ativas presentes na translocação bacteriana (OKAY, 2005).

Na histologia pulmonar, observamos um aumento no diâmetro dos vasos no grupo LDB+NaCl, fenômeno que caracteriza a síndrome hepatopulmonar. Esse achado está de acordo com o de outros trabalhos que utilizaram o mesmo modelo para investigação da SHP (WARNER & BRAIN, 1990; ZHANG et al., 2003). Em nosso estudo o grupo LDB+NAC reduziu a vasodilatação pulmonar, fenômeno acompanhado pela redução da lesão hepática, visto nas provas de integridade hepática, provavelmente pelo potencial antioxidante da NAC, que reduz o dano oxidativo no sangue nos animais com LDB.

CONCLUSÃO

O uso da NAC em animais com LDB parece reverter os efeitos deletérios nos tecidos hepáticos e pulmonares, porém maiores estudos clínicos que investiguem os reais benefícios desta droga sobre a hipoxemia presente na cirrose são necessários. Se tal efeito for comprovado poder-se-ia empregar a NAC em pacientes com síndrome hepatopulmonar em lista de espera para transplante hepático, com o intuito de melhorar sua qualidade de vida, reduzir a dependência de oxigênio e melhorar as condições clínicas para o transplante.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao FIPE-HCPA, ULBRA/FAPERGS, CAPES.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLESA, S. et al. Oral N-acetylcysteine attenuates the rat pulmonary inflammatory response to antigen. **European Respiratory Journal**, v.21, p. 394- 400, 2003.

CHANG, S. W.; OHARA, N. Chronic biliary obstruction induces pulmonary intravascular phagocytosis and endotoxin sensitivity in rats. **Journal of Clinical Investigation**, v.94, p.2009-2019, 1994.

CHANG, S. W.; OHARA, N. Pulmonary circulatory dysfunction in rats with biliary cirrhosis. An animal model of the

hepatopulmonary syndrome. **American Review of Respiratory Disease**, v.145, p.798-805, 1992.

CORTIJO, J. et al. Attenuation by oral N-acetylcysteine of bleomycin-induced lung injury in rats. **European Respiratory Journal**, v.23, p.629-636, 2004.

DEKHUIJZEN, P. N. R. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. **European Respiratory Journal**, v.25, p.552-563, 2005.

FALLON, M. B. et al. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome. **American Journal of Physiology**, v.272, p.G779-G784, 1997.

FALLON, M. B. Mechanisms of Pulmonary Vascular Complications of Liver Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v.39, p.S138-S142, 2005.

GOLDIN, J. R.; RAYMUNDO, M. M. **Pesquisa em saúde e direito dos animais**. 2.ed. Porto Alegre: HCPA, 1997.

KOUNTOURAS, J.; BILLING, B. H.; SCHEUER, P. J. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhoses in the rat. **British Journal of Experimental Pathology**, v.65, p.305-311, 1984.

KROWKA, M. J.; DICKSON, E. R.; CORTESE, D. A. Hepatopulmonary syndrome: clinical observations and lack of therapeutic response to somatostatine analogue. **Chest**, v.104, p.515-521, 1993.

LIMA, B.; MARTINELLI, A.; FRANÇA, A.

- V. C. Síndrome hepatopulmonar - patogenia, diagnóstico e tratamento. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.41, p.250-258, 2004.
- MONTERO, E. F.; QUIREZE, C.; D'OLIVEIRA, D. M. Bile duct exclusion from selective vascular inflow occlusion in rat liver: role of ischemic preconditioning and acetylcysteine on hepatic reperfusion injury. **Transplantation Proceedings**, v.37, p.425-427, 2005.
- NUNES, H. et al. Role of nitric oxide in hepatopulmonary syndrome in cirrhotic rats. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v.164, p.879-885, 2001.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, p.351-358, 1979.
- OKAY, E. et al. N-acetylcysteine attenuates bacterial translocation after partial hepatectomy in rats. **Journal of Surgical Research**, v.127, p.164-170, 2005.
- PASTOR, A. et al. Antioxidant enzyme status in biliary obstructed rats: effects of Sadenosylmethionine. **Journal of Hepatology**, v.27, p.363-367, 1997.
- PAVANATO, A. et al. Effects of quercetin on liver damage in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. **Digestive Diseases and Sciences**, v.4, p.824-829, 2003.
- PERES, W. et al. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. **Journal of Hepatology**, v.33, p.742-750, 2000.
- RABILLER, A. Prevention of gram-negative translocation reduces the severity of hepatopulmonary syndrome. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v.166, p.514-517, 2002.
- RODRIGUEZ-ROISIN, R. et al. Gas Exchange and pulmonary vascular reactivity in patients with liver cirrhosis. **American Review of Respiratory Disease**, v.135, p.1085-1092, 1987.
- THANNICKAL, V. J.; FANBURG, B. L. Reactive oxygen species in cell signaling. **American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology**, v.279, p.L1005-L1028, 2000.
- TIEPPO, J. et al. Common bile duct ligation as a model of hepatopulmonary syndrome and oxidative stress. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.42, p.244-248, 2005.
- WARNER, A.; BRAIN, J. The cell biology and pathogenic role of pulmonary intravascular macrophages. **American Journal of Physiology**, v.258, p.L1-L12, 1990.
- WEST, J. B. Transporte de gás à periferia. In: WEST, J. B. **Fisiologia respiratória moderna**. São Paulo: Manole, 2000. p. 67- 82.
- ZAFARULLAH, M. et al. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.60, p.6-20, 2003.