

# Repercussões pulmonares após isquemia hepática parcial e reperfusão – modelo experimental

## *Pulmonary effects after partial liver ischemia and reperfusion - experimental model*

LEONARDO FERNANDES CANEDO<sup>1</sup>; GABRIEL VARJÃO LIMA<sup>2</sup>; MARCEL CERQUEIRA CÉSAR MACHADO, TCBC-SP<sup>3</sup>

### R E S U M O

**Objetivo:** Descrever um modelo experimental de lesão de isquemia/reperfusão hepática com manifestações sistêmicas, representadas pelo envolvimento pulmonar, que possa ser utilizado por aqueles que pretendem compreender esse fenômeno. **Métodos:** Ratos Wistar machos (200-250g) foram usados. Quatorze foram alocados em dois grupos, sendo G1 com oito submetidos somente à laparotomia e G2, seis à isquemia e reperfusão hepática. As funções hepática (aminotransferases séricas, respiração mitocondrial, histologia) e pulmonar (teste do azul de Evans) foram analisadas. **Resultados:** houve diferença estatística significativa entre G1 e G2 ao se comparar valores de AST ( $24,3 \pm 108$  e  $5406 \pm 2263$ ), ALT ( $88,5 \pm 28,5$  e  $5169 \pm 2690$ ), razão de controle respiratório ( $3,41 \pm 0,17$  e  $1,91 \pm 0,55$ ) e relação ADP/O ( $1,93 \pm 0,03$  e  $1,45 \pm 0,27$ ), lesões histológicas (necrose, células inflamatórias, hemorragia, microesteatose) e teste do azul de Evans ( $194,31 \pm 53$  e  $491,8 \pm 141$ ). **Conclusão:** O modelo mostrou-se útil para o estudo de lesão de isquemia/reperfusão hepática.

**Descritores:** Modelos animais. Fígado. Isquemia. Reperfusão. Ratos Wistar.

### INTRODUÇÃO

Durante o transplante, a retirada do fígado do doador e sua revascularização no receptor determinam lesão de isquemia/reperfusão (I/R). Isquemia produz dano tecidual e estado pró-inflamatório que, com o estabelecimento posterior do fluxo sanguíneo, leva a outro efeito deletério: lesão de reperfusão.

A lesão de I/R é o principal determinante da disfunção hepática após hepatectomia e é também a causa mais importante da disfunção primária de enxerto hepático<sup>1,2</sup>, além de ser a principal causa de retransplante nas duas primeiras semanas de pós-operatório<sup>3</sup>.

Apesar dos avanços no estudo da causa e consequências da isquemia e reperfusão, ainda não há tratamento eficaz com comprovação clínica. Muitos modelos experimentais têm sido desenvolvidos com o objetivo de testar intervenções capazes de reduzir danos e fornecer conhecimento sobre os eventos fisiopatológicos envolvidos<sup>4</sup>, como interação de plaquetas<sup>5</sup>, ativação de complemento<sup>6</sup>, espécies reativas de oxigênio<sup>7</sup> e óxido nítrico<sup>8</sup>.

O objetivo deste estudo é demonstrar um modelo de isquemia e reperfusão hepática com manifestação

sistêmica, representada por lesão pulmonar, que possa ser útil para aqueles que pretendem compreender mecanismos de lesão de I/R ou desenvolver possíveis ações terapêuticas.

### MÉTODOS

Foram utilizados 14 ratos Wistar machos, adultos, pesando entre 200g e 250g, alojados em ambiente controlado, com 23°C, ciclos de claro/escuro de 12 horas e alimentados com ração comercial e água *ad libitum*. Todos os animais foram tratados de acordo com as Normas Internacionais de Proteção Animal. O protocolo, número 281/03, foi aprovado pelo Comitê de Ética local e cumpriu todos os regulamentos para pesquisas envolvendo animais de experimentação.

Os animais foram distribuídos em dois grupos: Grupo 1 (G1) – seis animais, submetidos à laparotomia sem pinçamento do pedículo vascular, e Grupo 2 (G2) – oito animais, submetidos à isquemia e reperfusão, receberam solução salina 0,9% por via intravenosa.

A anestesia foi realizada com injeção intraperitoneal de cloridrato de quetamina (Ketalar®) e

Trabalho realizado no Laboratório #LIM37, do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil.

1. Coordenador da Residência em Cirurgia Geral do Hospital Geral Roberto Santos, Bahia, Brasil; 2. Estudante de Graduação, Medicina, UFBA, Bahia, Brasil; 3. Titular da Disciplina de Transplante e Cirurgia do Fígado, Departamento de Gastroenterologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

cloridrato de xilazina (Rompum®) em razão 4:1. Na mesa cirúrgica, os ratos foram posicionados em decúbito dorsal e imobilizados pelas quatro extremidades e pela mandíbula superior. Um cateter (Jelco®) número 14 foi adaptado e usado como tubo traqueal, que, após colocação, teve seu posicionamento testado. Um ventilador mecânico (Harvard Inc., Holliston, MA) foi acoplado e ajustado para 60 respirações por minuto com volume corrente de 0,08ml por grama de peso. Um termômetro retal (YSI Inc., Dayton, Ohio) foi posicionado e fixado.

Após tricotomia e degermação da parede abdominal com iodo povidine, uma incisão mediana de aproximadamente 5cm com limite superior no apêndice xifóide foi realizada, seguida pela abertura da cavidade abdominal e exposição do campo operatório. Os ligamentos falciforme, triangular esquerdo e interlobar foram seccionados, seguidos por identificação do hilo hepático e reconhecimento de veia porta, artéria hepática e ramos ductos biliares. Logo depois, o pedículo vascular comum a ambos os lobos lateral-esquerdo e mediano foi isolado e uma pinça microvascular foi posicionada para cessar fluxo sanguíneo (Figura 1). Uma vez constatada a modificação da cor dos lobos hepáticos isquêmicos, delimitada por uma linha de transição com os lobos não-isquêmicos, procedeu-se ao fechamento da parede abdominal em um plano com Mononylon® 4-0 para minimizar perdas de calor e água.

Após clampeamento do pedículo, os animais foram submetidos à uma hora de isquemia quente. Durante este período foram mantidos anestesiados, mecanicamente ventilados, sob temperatura controlada entre 36,5 e 37°C, usando lâmpada de halogênio 45W/127V. Após 45 minutos de isquemia quente, um mililitro de solução salina 0,9% foi injetado na veia peniana dorsal. Terminado o período de isquemia quente, a incisão foi aberta e a pinça vascular foi removida, dando início ao período de reperfusão, certificada pela modificação de cor. A síntese da parede abdominal foi realizada com sutura contínua simples, em dois planos, com Mononylon® 4.0.

Os ratos foram extubados após a recuperação da ventilação espontânea e de reflexos a estímulos nocivos em membros inferiores e posteriormente acondicionados em gaiolas individuais com água *ad libitum*. Após quatro horas de reperfusão, os animais foram anestesiados com 2ml da solução anestésica quetamina/xilazina. Foram colocados de volta na mesa cirúrgica e injetado 0,5ml de azul de Evans pela veia peniana dorsal. Após 15 minutos foram realizadas toracolaparotomia, coleção de 1ml de sangue por punção cardíaca e secção da veia cava inferior.

O fígado foi removido e dividido em duas partes: a porção isquemiada e porção não-isquemiada. Procedeu-se a remoção de um fragmento de cada porção para avaliação histológica e o restante foi utilizado para avaliar respiração mitocondrial. Os pulmões foram retirados e enviados para estudo da densidade óptica com azul de Evans.

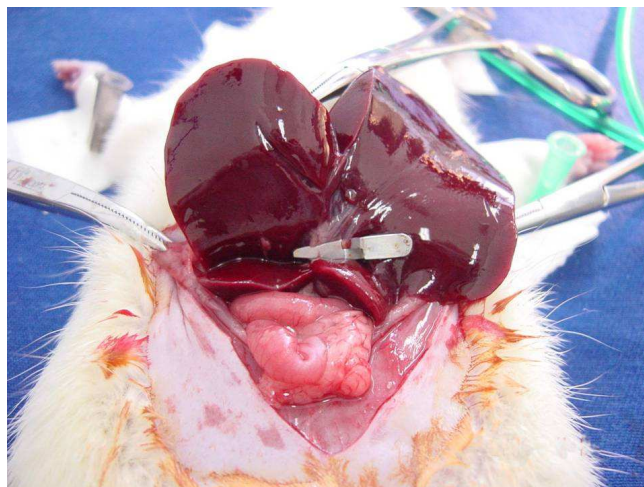


Figura 1 - Pedículo vascular comum aos lobos lateral-esquerdo e mediano clampeado.

Aminotransferases foram utilizadas como marcadores de lesão hepática.

A função mitocondrial foi avaliada utilizando o método descrito por Coelho *et al.*<sup>9</sup>. De acordo com o método de Bielecki *et al.*<sup>10</sup>, após o sacrifício, fragmentos dos lobos isquemiados e não-isquemiados do fígado foram removidos e imersos em solução de homogeneização. Consumo de oxigênio foi determinado polarograficamente<sup>11</sup>, usando um oxígrafo 5/6 (Gilson Medical Electronics, Inc.) com um eletrodo de O<sup>2</sup> (Clark, Yellow Springs Instruments Co., Yellow Springs, Ohio) a 28°C. As mitocôndrias receberam succinato de potássio como substrato energético para determinar o estado 4 (S4) da respiração (estado basal). O estado 3 (S3) da respiração (estado ativo) foi induzido pela adição de adenosina difosfato (ADP, Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri). Após fosforilação completa de todo ADP adicionado para ATP, S4 foi medido novamente.

A relação de controle respiratório (RCR) avalia as reações de acoplamento da razão mitocondrial S3/S4, ou seja, o consumo de oxigênio nos estados ativo e basal pela relação entre a taxa de consumo de oxigênio na presença de ADP e a velocidade obtida após o gasto final de ADP.

RCR e ADP/O, que representa a razão de ADP utilizado para fosforilação sobre o oxigênio consumido na reação, ou seja, quanto oxigênio foi gasto na fosforilação, foram calculadas como índices de funções oxidativas e fosforilativas das mitocôndrias<sup>12</sup>.

S3 e S4 foram expressos em nanogramas de átomos de oxigênio por miligrama de proteína mitocondrial por minuto, determinados pelo método de Lowry *et al.*<sup>13</sup>.

As alterações histológicas foram avaliadas por um patologista cego para alocação de grupo. O material foi fixado em formol a 2% e corado com hematoxilina e eosina. O azul de Evans foi administrado 15 minutos antes da morte dos animais e avaliado como descrito por Jancar *et al.*<sup>14</sup>

Os resultados foram expressos em médias e desvios-padrão. Para a análise dos achados histológicos foi

utilizado teste de Kruskal-Wallis. Quando diferenças estatísticas foram observadas, foi aplicada a análise de Mann-Whitney. Para determinar a significância de outros resultados, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) e Newman-Keuls. O valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

## RESULTADOS

### Aminotransferases

Os níveis séricos de AST e ALT aumentaram significativamente em G2 ( $p < 0,001$ ), quando comparados com G1 (Tabela 1).

### Respiração mitocondrial

Foram analisados os valores de RCR e ADP/O. A RCR diminuiu significativamente ( $p < 0,001$ ) em G2 (Tabela 2). A relação ADP/O foi significativamente menor ( $p < 0,001$ ) em G2 (Tabela 3).

### Análise histológica

A tabela 4 exibe os achados histológicos dos dois grupos. Foram avaliados necrose, apoptose, infiltrado inflamatório, dilatação sinusoidal, hemorragia, edema e microsteatose. Os achados foram classificados de acordo com a intensidade: ausente, leve, moderada ou grave. Para fins de análise estatística, quando as alterações foram ausentes ou leves, foram agrupadas como ausente e, quando classificadas como moderadas ou graves, foram agrupadas como presente.

### Avaliação pulmonar

O estudo da densidade óptica do corante no parênquima pulmonar mostrou aumento significativo ( $p < 0,01$ ) em G2 (Tabela 5).

**Tabela 1** - Níveis séricos de aminotransferases.

Grupo	AST	ALT
G1	24,3 ± 108	88,5 ± 28,5 a
G2	5.406 ± 2.263	5.169 ± 2.690 b

*a,b – p < 0,001*

**Tabela 2** - Determinação da RCR.

Grupo	RCR
G1	3,41 ± 0,17 a
G2	1,91 ± 0,55 b

*a,b – p < 0,001*

**Tabela 3** - Determinação da razão ADP/O.

Grupo	ADP/O
G1	1,93 ± 0,03 a
G2	1,45 ± 0,27 b

*a,b – p < 0,001*

**Tabela 5** - Teste azul de Evans.

Grupo	Evans blue (ug/g pulmonary tissue)
G1	194,31 ± 53 a
G2	491,8 ± 141 b

*a,b – p < 0,01*

**Tabela 4** - Achados histológicos.

Variável	Grupo	Ausente	Presente	Teste de Fisher
Necrose	G1	6	0	a
	G2	0	8	b
Apoptose	G1	6	0	a
	G2	4	4	b
Células inflamatórias	G1	6	0	a
	G2	0	8	b
Dilatação sinusoidal	G1	6	0	a
	G2	7	1	b
Hemorragia	G1	6	0	a
	G2	1	7	b
Tumefação	G1	4	2	a
	G2	8	0	b
Microsteatose	G1	6	0	a
	G2	1	7	b

*NS – diferença não-significativa.*

## DISCUSSÃO

Ratos Wistar foram escolhidos por fácil manuseio, baixo custo e disponibilidade. Além disso, padronização de tamanho, peso e alimentação favoreceram a produção de grupos mais homogêneos para o experimento.

Aspectos relacionados com o cuidado anestésico, monitorização de dados vitais e do procedimento cirúrgico foram considerados durante a elaboração do modelo. A maioria dos modelos experimentais mantém os animais em respiração espontânea durante a operação<sup>15-18</sup>. As bases fisiopatológicas dos efeitos das variações das pressões parciais dos gases e do pH já são bem estabelecidas<sup>19</sup>. Sabe-se, ainda, que as pressões dos gases arteriais e o pH influenciam diretamente a circulação hepática. Hughes *et al.*<sup>20</sup> demonstraram que a hipercapnia aumenta o fluxo sanguíneo portal e diminui o fluxo sanguíneo da artéria hepática em cães, enquanto hipocapnia diminui ambos os fluxos<sup>21</sup>. Já a hipoxemia resulta em queda do fluxo arterial, mas sem alterações no fluxo venoso portal<sup>22</sup>. Estas modificações na circulação hepática devem estar relacionadas com potencialização ou atenuação da lesão em situações de I/R. Variações no fluxo sanguíneo hepático também podem justificar as mudanças que ocorrem em nível celular. A influência da acidose *in vitro* em hepatócitos e células endoteliais também já foi estudada<sup>23,24</sup>. Heijnen *et al.*<sup>25</sup> demonstraram, *in vivo*, que a acidose respiratória agrava lesão de I/R com pressão parcial de oxigênio normal, enquanto que em condições de hipoxia ocorre o oposto, ou seja, lesão de I/R é atenuada.

Ventilação mecânica requer relaxamento muscular adequado para evitar a interação da respiração ativa de ratos inadequadamente anestesiados com o ventilador. Vale ressaltar que os ratos são animais hemodinamicamente instáveis, aumentando a necessidade de cuidados anestésicos em modelos de I/R, uma vez que o fenômeno de reperfusão por si só pode determinar hipotensão e arritmias cardíacas<sup>26</sup>. Anestesia com relaxamento muscular adequado para ventilação com pressão positiva e manutenção de estabilidade hemodinâmica foi alcançada com a combinação de xilazina e quetamina. Essa associação é comumente usada em diversos modelos, mesmo na ausência de suporte ventilatório<sup>17</sup>.

A temperatura, variável importante na regulação da contratilidade vascular e na curva de dissociação de oxigênio das hemácias para os tecidos<sup>19</sup>, foi também monitorada por meio de termômetro retal e controlada com a utilização de lâmpada halógena. Após a definição dos cuidados anestésicos e de monitorização, foi necessária a padronização do procedimento cirúrgico.

A opção pela isquemia dos lobos mediano e lateral-esquerdo foi decorrente de três fatores. Primeiro, pela simplicidade técnica. Após a liberação dos ligamentos triangular esquerdo e interlobar, a exposição do hilo permite o isolamento do pedículo comum aos lobos mediano e lateral-esquerdo sem muita manipulação cirúrgica. Segun-

do, o volume hepático correspondente aos dois lobos é significativo, representando 70% do total. E terceiro, o pinçamento parcial permite a drenagem venosa portal através dos demais segmentos hepáticos, possibilitando tempos de isquemia prolongados e prevenindo congestão mesentérica grave, o que diminui as chances de translocação bacteriana<sup>27</sup> e minimiza a interferência de mediadores inflamatórios secundários à estase mesentérica. O pinçamento do pedículo foi realizado com pinças vasculares atraumáticas especialmente ajustadas para evitar lesão direta do endotélio vascular.

A volemia estimada dos ratos corresponde a 5,4ml/100mg de peso<sup>28</sup>. Foi administrado 1ml de soro fisiológico, que representa aproximadamente 8% da volemia dos ratos do estudo. Essa administração foi realizada de modo a compensar perdas volêmicas do procedimento e evitar estabelecimento de hipotensão arterial e também para simular a injeção de drogas.

Existem diferentes tipos de modelos experimentais de isquemia hepática temporária<sup>4</sup>. A parcial, por interrupção do fluxo sanguíneo através dos lobos mediano e lateral-esquerdo, caracteriza o modelo de isquemia hepática parcial, utilizado neste e em muitos outros estudos<sup>6,7,27,29,30</sup>. Por definição, esses modelos são similares. No entanto, as maneiras de efetuar cuidados anestésicos, monitorizar dados vitais e realizar procedimentos cirúrgicos fornecem singularidade a cada um deles.

Zumbado *et al.*<sup>17</sup> demonstraram que tempos de isquemia inferiores a 60 minutos não causam lesões teciduais importantes. Por outro lado, tempos superiores a 120 minutos levam aumento significativo da morbidade e da mortalidade. Dados semelhantes foram observados no estudo piloto. Logo, visando não aumentar desnecessariamente o risco cirúrgico, o tempo de isquemia ficou determinado em 60 minutos.

O tempo de reperfusão foi também determinado por meio de estudo piloto e dados da literatura. Após 60 minutos de reperfusão, é possível observar até 60% das lesões secundárias aos radicais livres e, após 24 horas, as alterações decorrentes de quase todos os mecanismos de lesão conhecidos estão presentes<sup>17</sup>. Para determinar o tempo de reperfusão do presente estudo, foram analisados 60 minutos, quatro horas e 24 horas em testes preliminares, tendo sido demonstrado que quatro horas foi o intervalo de tempo satisfatório para o aparecimento de lesões suficientemente intensas. Portanto, quatro horas foi o tempo escolhido para reperfusão.

Canedo *et al.*<sup>5</sup> utilizaram esse modelo com sucesso quando, em vez de solução salina, aplicaram em um grupo de ratos cloridrato de tirofiban, um antiagregante plaquetário, e demonstraram sua ação protetora contra lesão de I/R não só hepática, mas também pulmonar.

O azul de Evans foi aqui utilizado porque é um corante que possui alta afinidade pela albumina. Esta característica permite-nos usá-lo para avaliar a permeabilidade vascular, uma vez que sua concentração no tecido pulmo-

nar lavado é proporcional ao vazamento de albumina pelo endotélio lesado.

Em conclusão, acredita-se na efetividade deste modelo, uma vez que foi capaz de demonstrar lesão hepá-

tica de I/R associada ao acometimento pulmonar sem mortes precoces dos ratos estudados. Assim, ele poderia ser usado para estudar mecanismos de lesão de I/R, bem como, maneiras de atenuar esse tipo de lesão

## A B S T R A C T

**Objective:** To describe an experimental model of hepatic ischemia/reperfusion injury with systemic manifestations, represented by pulmonary involvement, which may be used by those who intend to comprehend this phenomenon. **Methods:** Fourteen Male Wistar rats (200-250g) were allocated to two groups, G1 with eight rats submitted only to laparotomy and G2, six rats submitted to hepatic ischemia and reperfusion. Hepatic (serum aminotransferases, mitochondrial respiration, histology) and pulmonary (Evans blue test) functions were analyzed. **Results:** There was a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) between G1 and G2 comparing values of AST ( $24,3 \pm 108$  and  $5406 \pm 2263$ ), ALT ( $88,5 \pm 28,5$  and  $5169 \pm 2690$ ), respiratory control ratio ( $3,41 \pm 0,17$  and  $1,91 \pm 0,55$ ) and ADP/O relation ( $1,93 \pm 0,03$  and  $1,45 \pm 0,27$ ), histological lesions (necrosis, inflammatory cells, hemorrhage, microsteatosis) and Evans blue test ( $194,31 \pm 53$  and  $491,8 \pm 141$ ). **Conclusion:** The model has proven useful to study hepatic I/R injury.

**Key words:** Experimental Model. Wistar Rats. Liver. Ischemia. Reperfusion.

## REFERÊNCIAS

- Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, et al. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation -- a multivariate analysis. *Transplantation*. 1993;55(4):807-13.
- Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation*. 1992;53(5):957-78.
- Furukawa H, Todo S, Iinventarza O, Casavilla A, Wu YM, Scotti-Foglieni C, et al. Effect of cold ischemia time on the early outcome of human hepatic allografts preserved with UW solution. *Transplantation*. 1991;51(5):1000-4.
- Spiegel HU, Bahde R. Experimental models of temporary normothermic liver ischemia. *J Invest Surg*. 2006;19(2):113-23.
- Canedo LF, Machado MAC, Coelho AMM, Sampietre SN, Bachella T, Machado MCC. Efeito protetor de antagonista das glicoproteínas IIb/IIIa nas alterações hepáticas e pulmonares secundárias à isquemia e reperfusão do fígado em ratos. *Arq gastroenterol*. 2007;44(3):276-81.
- Heijnen BH, Straatsburg IH, Padilha ND, Van Mierlo GJ, Hack CE, Van Gulik TM. Inhibition of classical complement activation attenuates liver ischaemia and reperfusion injury in a rat model. *Clin Exp Immunol*. 2006;143(1):15-23.
- Abe Y, Hines IN, Zibari G, Pavlick K, Gray L, Kitagawa Y, et al. Mouse model of liver ischemia and reperfusion injury: method for studying reactive oxygen and nitrogen metabolites in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2009;46(1):1-7.
- Caban A, Oczkowicz G, Abdel-Samad O, Cierpka L. Influence of ischemic preconditioning and nitric oxide on microcirculation and the degree of rat liver injury in the model of ischemia and reperfusion. *Transplant Proc*. 2006;38(1):196-8.
- Coelho AMM, Machado MCC, Sampietre SN, Leite KRM, Molan NAT, Pinoti HW. Lesão hepática na pancreatite aguda experimental: influência da redução da reserva enzimática do pâncreas. *Rev Hosp Clin Fac Med Univ São Paulo*. 1998;53(3):104-9.
- Bielecki JW, Dlugosz J, Pawlicka E, Gabryelewicz A. The effect of pancreatitis associated ascitic fluid on some functions of rat liver mitochondria. A possible mechanism of the damage to liver in acute pancreatitis. *Int J Pancreatol*. 1989;5(2):145-56.
- Estabrook RW. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP: o ratios. *Meth Enzymol*. 1967;10:41-7.
- Chance B, Williams GR. A simple and rapid assay of oxidative phosphorylation. *Nature*. 1955;175(4469):1120-1.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75.
- Jancar S, De Giacobbi G, Mariano M, Mencia-Huerta JM, Sirois P, Braquet P. Immune complex induced pancreatitis: effect of BN 52021, a selective antagonist of platelet-activating factor. *Prostaglandins*. 1988;35(5):757-70.
- Sakamoto N, Sun Z, Brengman ML, Maemura K, Ozaki M, Bulkley GB, et al. Hepatic reticuloendothelial system dysfunction after ischemia-reperfusion: role of P-selectin-mediated neutrophil accumulation. *Liver Transpl*. 2003;9(9):940-8.
- Topaloglu S, Abbasoglu O, Ayhan A, Sokmensuer C, Kilinc K. Antiapoptotic and protective effects of roscovitine on ischemia-reperfusion injury of the rat liver. *Liver Int*. 2003;23(4):300-7.
- Zumbado M, Domínguez-Díez A, Hernández JR, Díaz JM, Palomar R, Garcia-Plaza G, et al. Evaluation of the potential protective effect of 21-aminosteroid U-74389G on liver injury induced by reduced and prolonged partial hepatic ischaemia reperfusion in rats. *Pharmacol Toxicol*. 2003;93(5):238-43.
- Elimadi A, Sapena R, Settaf A, Le Louet H, Tillement J, Morin D. Attenuation of liver normothermic ischemia -- reperfusion injury by preservation of mitochondrial functions with S-15176, a potent trimetazidine derivative. *Biochem Pharmacol*. 2001;62(4):509-16.
- Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1989. Princípios físicos das trocas gasosas; difusão de oxigênio e dióxido de carbono através da membrana respiratória; p. 383-400. (não localizado)
- Hughes RL, Mathie RT, Campbell D, Fitch W. Systemic hypoxia and hyperoxia, and liver blood flow and oxygen consumption in the greyhound. *Pflugers Arch*. 1979;381(2):151-7.
- Hughes RL, Mathie RT, Campbell D, Fitch W. Effect of hypercarbia on hepatic blood flow and oxygen consumption in the greyhound. *Br J Anaesth*. 1979;51(4):289-96.
- Hughes RL, Mathie RT, Fitch W, Campbell D. Liver blood flow and oxygen consumption during hypocarbia and IPPV in the greyhound. *J Appl Physiol*. 1979;47(2):290-5.
- Bronk SF, Gores GJ. Acidosis protects against lethal oxidative injury of liver sinusoidal endothelial cells. *Hepatology*. 1991;14(1):150-7.
- Bonventre JV, Cheung JY. Effects of metabolic acidosis on viability of cells exposed to anoxia. *Am J Physiol*. 1985;249(1 Pt 1):C149-59.



25. Heijnen BH, Elkhouloufi Y, Straarsburg IH, Van Gulik TM. Influence of acidosis and hypoxia on liver ischemia and reperfusion injury in an in vivo rat model. *J Appl Physiol.* 2002;93(1):319-23.
26. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 2001;94(6):1133-8.
27. Wang L, Xu JB, Wu HS, Zhang JX, Zhang JH, Tian Y, et al. The relationship between activation of TLR4 and partial hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2006;5(1):101-4.
28. Hirano ES, Mantovani M, Morandin RC, Fontelles MJP. Modelo experimental de choque hemorrágico. *Acta cir bras.* 2003;18(5):465-70.
29. Pacheco EG, Gomes MCJ, Rodrigues GR, Campos W, Kemp R, Castro e Silva O. Efeito do pré-condicionamento isquêmico hepático submetido à lesão de isquemia/reperfusão do fígado. *Acta cir bras.* 2006;21(suppl 1):24-8.
30. Didoné EC, Cerski CT, Kalil AN. N-acetilcisteína diminui a congestão hepática na lesão de isquemia e reperfusão: estudo experimental. *Rev Col Bras Cir.* 2002;29(4):191-6.

Recebido em 03/10/2011

Aceito para publicação em 03/12/2011

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

**Como citar este artigo:**

Canedo LF, Lima GV, Machado MCC. Modelo experimental de isquemia e reperfusão hepática parcial em ratos Wistar. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2012; 39(3). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

**Endereço para correspondência:**

Leonardo Fernandes Canedo

E-mail: [leo.canedo1@gmail.com](mailto:leo.canedo1@gmail.com)