

Avaliação da regeneração hepática com modulação pelo pré-condicionamento isquêmico após isquemia e reperfusão e hepatectomia parcial

Evaluation of liver regeneration by modulation with ischemic preconditioning after ischemia and reperfusion and partial hepatectomy

LAURA SAMPAIO SALOMÃO¹; SILVIA BARBOSA YOUNG, ACBC-RS¹; MARIA APARECIDA GALHARDO TCBC-RJ²; LEANDRO ALVES PEREIRA³; ANDRÉA RODRIGUES CORDOVIL PIRES⁴; GILSON TELES BOAVENTURA⁵; ANA MARIA REIS FERREIRA⁶; JOSÉ MANOEL MARTINHO, TCBC-RJ⁷

R E S U M O

Objetivo: Avaliar a regeneração hepática com modulação pelo pré-condicionamento isquêmico após isquemia, reperfusão e hepatectomia parcial. **Métodos:** Foram usadas 24 ratas Wistar, de 12 semanas de idade, distribuídas randomicamente em quatro grupos: Grupo Controle (SHAM), Grupo Hepatectomia (HEP), Grupo Isquemia e Reperfusão (GIR) e Grupo Pré-condicionamento Isquêmico (PRE). Foi feita a análise das enzimas hepáticas ALT e AST, avaliação da regeneração através dos pesos inicial e final do fígado e da proliferação dos hepatócitos pela análise imunistoquímica com o *Proliferating Cell Nuclear Antigen* (PCNA). **Resultados:** Em todos os grupos ocorreu regeneração do fígado, não havendo significância estatística entre eles. Houve diferenças significativas em relação a ALT e AST entre os grupos HEP-SHAM, GIR-PRE, GIR-SHAM E PRE-SHAM ($p < 0,05$). Também houve diferença significativa em relação à marcação de PCNA do grupo SHAM quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). **Conclusão:** O pré-condicionamento isquêmico diminuiu a lesão hepática, mas não influenciou na regeneração até 48 horas.

Descritores: Regeneração hepática. Precondicionamento isquêmico. Isquemia. Reperfusão. Hepatectomia.

INTRODUÇÃO

A capacidade de regeneração do fígado tem sido amplamente reconhecida ao longo do tempo. Esse processo aparece como resposta às agressões causadas ao fígado por ressecções cirúrgicas, traumas, infecções ou intoxicações medicamentosas, que tem como consequência perdas de parênquima¹.

No tratamento das lesões hepáticas, a ressecção de segmentos ou lobos é, na maioria das vezes, o procedimento utilizado. Durante o procedimento cirúrgico é de grande importância o controle do sangramento² através da exclusão total ou parcial do fluxo sanguíneo para o fígado, durante a ressecção¹⁻³. Este procedimento leva à privação do aporte de oxigênio ao tecido remanescente, causando injúria tecidual, a qual se denomina lesão de isquemia e reperfusão (IR)⁴⁻⁶.

Em 1908, com o objetivo de coibir sangramentos hepáticos, Pringle⁷ criou uma técnica de pinçamento da tríade portal com indução de isquemia hepática⁸. Esta técnica tem sido um dos procedimentos utilizados nas operações por trauma hepático e nas ressecções hepáticas segmentares ou amplas, visando diminuir as perdas sanguíneas⁹. No entanto, a manobra de Pringle induz lesão de IR no fígado remanescente, associada com o aumento da morbidade e mortalidade¹⁰.

Durante a lesão de IR, ocorrem alterações, tais como, distúrbios da microcirculação hepática, elevação da concentração sérica de aminotransferases e de desidrogenase láctica, disfunção mitocondrial e lipoperoxidação, relacionadas, na sua maioria, à duração da isquemia^{11,12}.

O pré-condicionamento isquêmico (IPC) é um dos procedimentos utilizados na proteção do fígado das lesões

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense - UFF, no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFF (LABNE/UFF) e no Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária da UFF, Niterói, RJ, Brasil.

1. Aluna do Curso de Mestrado em Ciências Médicas pela Universidade Federal Fluminense- Niterói-RJ-BR; 2. Professor Adjunto da Escola de Medicina Souza Marques, Rio de Janeiro- RJ-BR; 3. Estatístico da Faculdade de Matemática da Universidade Federal de Uberlândia – Uberlândia – MG-BR; 4. Professor Adjunto do Departamento de Patologia da Universidade Federal Fluminense; 5. Professor Associado III do Departamento de Nutrição e Dietética da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal Fluminense; 6. Professor Titular do Departamento de Patologia e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Clínica e Reprodução Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense; 7. Professor Associado III do Departamento de Cirurgia Geral da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense.

de IR. Atua no período antecedente à isquemia, e constituiu-se na indução de um pequeno período de isquemia seguido por pequeno período de reperfusão antes do período mais longo de isquemia propriamente dita^{2,12,13}.

No início de 2008, uma revisão sistemática¹⁴, do grupo de cirurgia hepatobiliar da Fundação Cochrane, em ensaios clínicos, não conseguiu evidências que suportassem ou refutassem o uso do IPC na cirurgia do fígado. Estudos adicionais foram recomendados para avaliar o papel do IPC em hepatectomias envolvendo o período de isquemia normotérmica.

O objetivo deste estudo foi analisar a influência do IPC na regeneração hepática após IR e hepatectomia parcial.

MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal Fluminense (UFF) (nº de registro 049/08).

Foram utilizadas 24 ratas da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, com 12 semanas de idade, fornecidas pelo NAL – Núcleo de Criação de Animais de Laboratório da UFF. Os animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da UFF, até que completassem idade ideal para procedimento cirúrgico. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos cirúrgicos: Grupo Controle – SHAM (n= 6) – composto por ratos submetidos à laparotomia, simulação cirúrgica e observação sob anestesia durante 60 minutos, período correspondente aos dos demais grupos; Grupo Hepatectomia – HEP (n= 6) – composto por ratos submetidos à hepatectomia parcial após 55 minutos da abertura da cavidade; Grupo Isquemia e Reperfusão – GIR (n= 6) – composto por ratos submetidos à isquemia de 30 minutos e posterior hepatectomia parcial; Grupo Pré-condicionamento – PRE (n= 6) – composto por ratos submetidos ao IPC de 10/10 minutos seguido de 30 minutos de isquemia e posterior hepatectomia parcial.

Foi utilizado durante todo o procedimento operatório, microscópio cirúrgico nos aumentos de seis a 16 vezes e instrumental microcirúrgico. Todos os animais foram submetidos à laparotomia mediana, iniciando no apêndice xifoide, com 5cm de extensão. Realizada a secção dos ligamentos falciformes e coronário esquerdo e a identificação e isolamento do pedículo hepático, englobando o ducto biliar, artéria hepática e veia porta. Nos grupos HEP, GIR, PRE foi realizada hepatectomia parcial de 70%, pela retirada dos lobos mediano e lateral esquerdo. Os fígados ressecados foram pesados.

Também em todos os animais, após revisão da hemostasia, o fechamento da parede da cavidade abdominal consistiu de um plano músculo aponeurótico com sutura continua com fio náilon 4-0 e sutura separada de pele com náilon 5-0.

Após 48 horas em observação, foram relaparotomizados para realização de coleta de sangue através de punção da veia cava infra-hepática e remoção dos lobos remanescentes e, em seguida, eutanasiados.

O fígado remanescente foi retirado e pesado. O percentual da massa hepática regenerada foi calculado, conforme a fórmula: $\% = [C - (A - B)]/A \times 100\%$, onde: A= peso total estimado no momento da hepatectomia parcial; B= peso do fígado ressecado, (aproximadamente 70% do peso total do fígado) e C= peso do fígado regenerado no momento do sacrifício.

Para avaliar a lesão hepática foram feitas as análises bioquímicas de alanina aminotransferase (ALT), e aspartato aminotransferase (AST).

Para a análise imunoistoquímica com o PCNA as imagens foram captadas e analisadas, em procedimento cego, com o auxílio do microscópio de luz, sendo feito contagem de 1000 células, evidenciando os núcleos marcados e negativos.

Todos os dados foram expressos sob forma de tabelas com os valores de médias \pm desvio-padrão. Para a análise dos resultados foram aplicados os testes segundo a natureza das variáveis. Para a análise dos resultados e comparação entre os grupos, foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Adotou-se o nível de significância de 0,05 ou 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os pesos finais dos fígados remanescentes apresentaram regeneração em torno de 60% após a hepatectomia em todos os grupos (Tabela 1), não ocorrendo diferença estatística entre eles (Tabela 2).

Foram calculadas a média e o desvio-padrão de ALT, AST e do percentual de positividade do PCNA (Tabela 3). O grupo GIR obteve o maior valor de ALT e AST (324 e 1442, respectivamente) e observou-se que o grupo PRE teve valores de ALT e AST (187,5 e 988, respectivamente) menores do que os do grupo GIR. Em relação às transaminases, houve diferenças significativas entre os grupos HEP-SHAM, GIR-SHAM, PRE-SHAM e GIR-PRE ($p < 0,05$).

Quanto ao percentual de positividade para o PCNA, o grupo HEP teve o maior percentual (52,25%), enquanto que o grupo SHAM apresentou os valores mínimos de PCNA (5,67%) (Tabela 3). Apenas o grupo SHAM, quando comparado com os demais grupos, obteve diferença significativa.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, o pré-condicionamento isquêmico não foi capaz, em 48 horas, de aumentar a proliferação celular após isquemia e reperfusão seguida de

Tabela 1 - Médias dos valores do peso total hepático, peso inicial, peso final e peso do lobo remanescente dos grupos SHAM, HEP, GIR e PRE.

Grupos	Peso Total (A)		Peso Inicial (B)		Peso Final (C)		Peso da Parte Regenerada (C- (A-b))	
	Gramas	Gramas	Gramas	Porcentagem	Gramas	Porcentagem	Gramas	Porcentagem
SHAM	6,84		6,84					
HEP	6,59	4,62	5,95	90,01%	3,97	60,03%		
GIR	6,5	4,55	5,85	89,93%	3,9	60,00%		
PRE	6,6	4,62	6,14	93,18%	4,16	63,16%		

Tabela 2 - Teste Mann-Whitney para comparação de ALT, AST, percentual de positividade do PCNA e regeneração dos hepatócitos dos grupos SHAM, HEP, GIR E PRE.

Teste de Mann-Whitney	ALT	AST	PCNA	Regeneração
HEP-GIR	0,69	0,07	0,22	0,81
HEP-PRE	0,14	0,81	0,93	0,47
HEP-SHAM	0,005*	0,005*	0,005*	-
GIR-PRE	0,02*	0,02*	0,93	0,23
GIR-SHAM	0,005*	0,005*	0,01*	-
PRE-SHAM	0,005*	0,005*	0,005*	-

valores com * indicam diferenças significativas ($P < 0,05$)

Tabela 3 - Média e desvio-padrão de ALT, AST e percentual de positividade do PCNA dos grupos SHAM, HEP, GIR E PRE.

Grupo	Média (\pm desvio-padrão)		
	ALT	AST	PCNA
SHAM	41,333 \pm 2,42	216,5 \pm 22,01	5,67 \pm 5,48
HEP	292,5 \pm 133,01	1089 \pm 395,98	52,25 \pm 22,18
PRE	187,5 \pm 35,76	988 \pm 291,5	43,84 \pm 27,42
GIR	324 \pm 119,34	1442 \pm 249,11	38,75 \pm 13,50

hepatectomia parcial. No entanto, diminuiu a lesão hepática após a hepatectomia.

Um dos procedimentos utilizados para proteger o fígado da IR é o IPC, que se baseia na premissa dos tecidos adquirirem resistência aos efeitos da IR através da exposição prévia a breves períodos de oclusão vascular¹². O curto intervalo de tempo de isquemia durante o IPC geraria estresse oxidativo leve, induzindo mecanismos de defesa natural¹³.

Neste trabalho, as hepatectomias foram realizadas conforme o modelo experimental de regeneração hepática em ratos Wistar descrito por Higgins e Anderson, em 1931. A hepatectomia parcial descrita por esses pesquisadores é considerada um dos melhores modelos para o estudo de regeneração hepática, pois permite a definição precisa do início do estímulo regenerativo. Consiste na ressecção dos lobos lateral esquerdo e mediano, que

correspondem a aproximadamente 70% da massa hepática total. Os lobos lateral direito e caudado, que correspondem, respectivamente, a cerca de 24% e 6% da massa hepática total, são mantidos intactos¹.

Na regeneração hepática os hepatócitos são ativados principalmente por citocinas para iniciar a fase de ciclo celular, na qual ocorre ativação de genes que levam os hepatócitos da fase G0 para a fase G1. Neste processo estão envolvidas várias proteínas, fatores de crescimento, quinases ciclo dependentes^{15,16}. As células progridem pelo ciclo celular, passando para a fase S, havendo síntese do DNA. Segue-se para a fase G2 (de replicação), em que são sintetizadas as proteínas necessárias para a divisão celular, e, por fim, a fase da mitose (M) propriamente dita¹⁷. Após uma fase de intenso crescimento e re-estruturação do parênquima hepático, o processo regenerativo cessa^{16,18}. Os hepatócitos são os primeiros a se proliferarem, constitu-

indo cerca de 90% da massa hepática e 60% do número total de células^{12,17}. Por isso, optou-se por avaliar a proliferação celular dos hepatócitos.

Para a detecção da proliferação celular em vários tecidos, têm-se usado diferentes métodos que fornecem informações a respeito do crescimento e reparação teciduais. Uma técnica utilizada é o uso do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), que é expresso na fase G1 tardia e durante a fase S do ciclo celular¹⁵.

A lesão hepática foi avaliada a partir do nível das enzimas hepáticas, ALT e AST, que, acima do normal, indicam algum dano hepático¹⁹. Na lesão hepatocelular leve, a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto que em lesões graves, há liberação de enzima mitocondrial elevando a relação AST/ALT. Neste caso, os valores de ALT podem ter diminuição mais rápida por terem sido primeiramente lançados na corrente circulatória permanecendo, portanto, os valores de AST elevados por mais tempo, ocasionando a elevação da relação AST/ALT²⁰.

Neste experimento, os animais submetidos à hepatectomia obtiveram aumento do peso do fígado remanescente de cerca de 60%. Esse percentual se deve ao tempo de observação, 48 horas, já que o processo de restauração da massa original leva de cinco a sete dias²¹.

Neste trabalho, os grupos onde os animais foram submetidos à hepatectomia apresentaram valores de ALT acima do normal (considerando os valores de 26 e 78 UI/l como fisiológicos para a espécie)¹⁹. A diferença significativa encontrada entre os grupos GIR e PRE demonstra a diminuição da lesão hepática com o IPC. Considerando os valores de 157 UI/l a 246 UI/l como fisiológicos para a enzima hepática AST para a espécie estudada¹⁹, apenas o grupo SHAM apresentou valores dentro dos limites nor-

mais. Também neste caso, a diferença significativa dos grupos GIR e PRE reforça a proteção do IPC sobre o fígado, conforme descrito por outros autores em trabalhos experimentais e clínicos^{15,22-24}.

Nesta pesquisa, com relação ao percentual de positividade do PCNA, o grupo HEP teve o maior índice, seguido dos grupos PRE, GIR e SHAM, respectivamente. O grupo SHAM se difere significativamente dos demais grupos, no entanto, esses não apresentaram diferença significativa quando comparados entre eles. Esse resultado demonstra que, apesar da maior proliferação celular do grupo com pré-condicionamento isquêmico, este não demonstrou capacidade de aumentá-la significativamente, já que ela se apresentou diminuída pela lesão de IR em relação aos animais submetidos somente ao estímulo da hepatectomia.

Em um estudo prospectivo, Clavien *et al.*²³ mostraram a eficiência do IPC em reduzir as lesões de IR, no primeiro estudo clínico envolvendo o IPC do fígado em pacientes submetidos à hepatectomia. No entanto, evidenciou algumas situações onde o IPC foi ineficaz, como em ressecções maiores que 50%. Azoulay *et al.*²⁴ relataram pela primeira vez o uso do IPC no transplante clínico demonstrando maior tolerância à lesão de IR, mas identificaram piora da função hepática inicial.

Esse trabalho experimental analisa somente o tempo de 48 horas após a hepatectomia, mas corrobora os trabalhos clínicos^{14,23,24} que não permitem, em ressecções ampliadas, fazer indicação definitiva do uso do pré-condicionamento isquêmico.

Em conclusão, o pré-condicionamento isquêmico diminuiu a lesão hepática após a hepatectomia, mas não melhorou a regeneração após a lesão de isquemia e reperfusão.

A B S T R A C T

Objective: To evaluate liver regeneration modulated by ischemic preconditioning after ischemia, reperfusion and partial hepatectomy.

Methods: We used 24 Wistar rats of 12 weeks of age, which were randomly assigned into four groups: control (SHAM), hepatectomy (HEP), ischemia and reperfusion (IRG) and Ischemic Preconditioning (SRG). Analyses were made on liver enzymes ALT and AST, assessment of regeneration through the initial and final weight of the liver and the proliferation of hepatocytes by immunohistochemical analysis with Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA). **Results:** In all groups there was liver regeneration, with no statistically significant difference between them. There were significant differences in ALT and AST between groups HEP and SHAM, PRE and GIR, GIR and SHAM and PRE and SHAM ($p < 0.05$). There were also significant differences in the PCNA labeling of the SHAM group as compared to other groups ($p < 0.05$). **Conclusion:** The ischemic preconditioning decreased liver injury, but did not influence the regeneration up to 48 hours.

Key words: Hepatic regeneration. Ischemic preconditioning. Ischemia. Reperfusion. Hepatectomy.

REFERÊNCIAS

1. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol.* 2000;32(1 Suppl):19-31.
2. Pacheco EG, Ramalho FS, Ramalho LNZ, Zucoloto S, Castro e Silva Jr O, Oliveira AF. Efeitos do pré-condicionamento hepático em ratos cirróticos, submetidos à isquemia e reperfusão hepática: resultados preliminares. *Acta cir bras.* 2001;16(Supl 1):41-3.
3. Gurusamy KS, Kumar Y, Sharma D, Davidson BR. Methods of vascular occlusion for elective liver resections. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(4):CD006409. Update in: *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(1):CD006409.
4. Ishikawa Y, Yamamoto Y, Kume M, Yamagami K, Yamamoto H, Kimoto S, et al. Heat shock preconditioning on mitochondria during warm ischemia in rat livers. *J Surg Res.* 1999;87(2):178-84.

5. Kohli V, Selzner M, Madden JF, Bentley RC, Clavien PA. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Transplantation*. 1999;67(8):1099-105.
6. Daemen M, de Vries B, Buurman WA. Apoptosis and inflammation in renal reperfusion injury. *Transplantation*. 2002;73(11):1693-700.
7. Canalese J, Gove CD, Gimson AE, Wilkinson SP, Wardle EN, Williams R. Reticuloendothelial system and hepatocytic function in fulminant hepatic failure. *Gut*. 1982;23(4):265-9.
8. Mantovani M, Fontelles MJ, Hirano ES, Morandin RC, Caputo LRG, Schenka AA. Isquemia e reperfusão total associada ao estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no sequestro de neutrófilos no pulmão do rato. *Acta cir bras*. 2002;17(1):46-54.
9. Teixeira ARF, Molan NT, Kubrusly MS, Bellodi-Privato M, Coelho AM, Leite KR, et al. Pós-condicionamento melhora a peroxidação lipídica na lesão de isquemia-reperfusão hepática em ratos. *Acta cir bras*. 2009;24(1):52-6.
10. Petrowsky H, McCormack L, Trujillo M, Selzner M, Jochum W, Clavien PA. A prospective, randomized, controlled trial comparing intermittent portal triad clamping versus ischemic preconditioning with continuous clamping for major liver resection. *Ann Surg*. 2006;244(6):921-8; discussion 928-30.
11. Santos CHM, Pontes JCDV, Mijji LNO, Nakamura DI, Galhardo CAV, Aguenta SM. Efeito do pós-condicionamento isquêmico sobre a isquemia e reperfusão hepática em ratos. *Acta cir bras*. 2010;25(2):163-8.
12. Lima CX. Efeitos do pré-condicionamento por oxigenoterapia hiperbárica na lesão de isquemia e reperfusão hepática em ratos [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade de Minas Gerais, Faculdade de Medicina; 2006.
13. Centurion S, Brisotti JL, Oliveira GR, Tolentino E, Pacheco EG, Oliveira AF, et al. Avaliação da função mitocondrial do fígado submetido à isquemia parcial com e sem pré-condicionamento isquêmico. *Acta cir bras*. 2001;16(Supl 1):61-2.
14. Gurusamy KS, Kumar Y, Sharma D, Davidson BR. Ischaemic preconditioning for liver transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;(1):CD006315.
15. Galhardo MA, Júnior CQ, Riboli Navarro PG, Morello RJ, De Jesus Simões M, De Souza Montero EF. Liver and lung late alterations following hepatic reperfusion associated to ischemic preconditioning or N-acetylcysteine. *Microsurgery*. 2007;27(4):295-9.
16. Tannuri ACA. Modelos de regeneração hepática em animais em crescimento: estudos histológicos, moleculares e avaliação de efeitos em imunossupressores [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2007.
17. Kurir TT, Markoti A, Katalini V, Bozani D, Cikes V, Zemunik T, et al. Effect of hyperbaric oxygenation on the regeneration of the liver after partial hepatectomy in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(8):1231-7.
18. Jesus RP, Waitzberg DL, Campos FG. Regeneração hepática: papel dos fatores de crescimento e nutrientes. *Rev Assoc Med Bras*. 2000;46(3):242-54.
19. Jeschke MG, Low JF, Spies M, Vita R, Hawkins HK, Herndon DN, et al. Cell proliferation, apoptosis, NF-kappaB expression, enzyme, protein, and weight changes in liver of burned rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001;280(6):G1314-20.
20. Rüdiger HA, Graf R, Clavien PA. Sub-lethal oxidative stress triggers the protective effects of ischemic preconditioning in the mouse liver. *J Hepatol*. 2003;39(6):972-7.
21. Fausto N, Laird AD, Webber EM. Liver regeneration. 2. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *FASEB J*. 1995;9(15):1527-36.
22. Peralta C, Hotter G, Closa D, Prats N, Xaus C, Gelpí E, Roselló-Catafau J. The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors. *Hepatology*. 1999;29(1):126-32.
23. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg*. 2000;232(2):155-162.
24. Azoulay D, Lucidi V, Andreani P, Maggi U, Sebah M, Ichai P, et al. Ischemic preconditioning for major liver resection under vascular exclusion of the liver preserving the caval flow: a randomized prospective study. *J Am Coll Surg*. 2006;202(2):203-11.

Recebido em 20/10/2011

Aceito para publicação em 19/12/2011

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: FAPERJ

Como citar este artigo:

Salomão LS, Young SB, Galhardo MA, Pereira LA, Pires ARC, Boaventura GT, Ferreira AMR, Martinho JM. Avaliação da regeneração hepática com modulação pelo pré-condicionamento isquêmico após isquemia e reperfusão e hepatectomia parcial. *Rev Col Bras Cir*. [periódico na Internet] 2012; 39(3). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

José Manuel Martinho

E-mail: jmanuel.martinho@gmail.com