

# EFEITOS DO EXTRATO DE AROEIRA NO FÍGADO APÓS ISQUEMIA-REPERFUSÃO HEPÁTICA: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

## EFFECTS OF AROEIRA EXTRACT ON THE LIVER AFTER HEPATIC ISCHEMIA-REPERFUSION: EXPERIMENTAL STUDY IN RATS

Jéssica Mendes Costa de Freitas Santos<sup>1</sup>, Jéssica Silva Sousa<sup>2</sup>, João Victor Peres Lima<sup>3</sup>, Yglésio Luciano Moysés Silva de Souza<sup>4</sup>, Stephanie do Nascimento Camara<sup>5</sup>, Vinícius Pereira Aguiar<sup>6</sup>

### Resumo

**Introdução:** A isquemia-reperfusão hepática pode ser um artifício de controle para minimizar o sangramento durante cirurgias, mas há lesões consequentes a essa manobra devido a distúrbios microcirculatórios. **Objetivo:** Estudar a repercussão do uso do extrato de Aroeira sobre o fígado, após isquemia e perfusão hepática, através de parâmetros histopatológicos e enzimáticos. **Métodos:** Estudo experimental com 8 ratos machos, da linhagem Wistar, que foram divididos em dois grupos. O Grupo AR recebeu dose única diária de extrato de Aroeira, enquanto o Grupo CTR recebia o mesmo volume de água destilada. Após dez dias, os animais foram submetidos a 30 minutos de isquemia hepática, seguida de perfusão. Após 8 horas, foi feita a hepatectomia total para análise histológica e punção cardíaca para coleta sanguínea. **Resultados:** O estudo mostrou que 75% dos ratos do Grupo AR tiveram alterações histopatológicas no fígado, especialmente tumefação hepatocelular e alterações na integridade dos capilares sinusoides, mas também foi comum o acometimento de esteatose hepática, necrose celular e inflamação lobular. No Grupo CTR, 100% dos ratos apresentaram pelo menos duas alterações histopatológicas. As mais comuns foram: tumefação hepatocelular, esteatose hepática e mudança da integridade dos capilares sinusoides. Em relação à PCR, 100% dos animais tiveram aumento comparado ao valor de referência para ratos. Já as enzimas hepáticas, ALT e AST, tiveram 1 rato (25%) do Grupo AR com aumento em relação ao valor de referência, encontrado  $p=0.31$  para ambas. **Conclusão:** o extrato de Aroeira não teve repercussões microscópica ou enzimática estatisticamente significantes no fígado após lesão de isquemia-reperfusão hepática.

**Palavras-chave:** Reperfusão. Isquemia. Hepatectomia.

### Abstract

**Introduction:** Hepatic ischemia-reperfusion may be a control device to minimize bleeding during surgeries, but there are lesions resulting from this maneuver due to microcirculatory disorders. **Objective:** to study the repercussion of the use of Aroeira extract on the liver, after ischemia and liver reperfusion, through histopathological and enzymatic parameters. **Methods:** experimental study with 8 male Wistar rats, divided into two groups. The AR Group received a single daily dose of Aroeira extract, while the CTR Group received the same volume of distilled water. After ten days, the animals were submitted to 30 minutes of hepatic ischemia, followed by reperfusion. After 8 hours, total hepatectomy was performed for histological analysis and cardiac puncture for blood collection. **Results:** 75% of rats in the AR Group had histopathological changes in the liver, especially hepatocellular swelling and changes in the integrity of sinusoid capillaries, but hepatic steatosis, cellular necrosis and cellular necrosis were also common, and also common. lobular inflammation. In the CTR Group, 100% of the rats presented at least two histopathological alterations. The most common were: hepatocellular swelling, hepatic steatosis and change in the integrity of sinusoid capillaries. In relation to PCR, 100% of the animals had an increase compared to the reference value for rats. Liver enzymes, ALT and AST, had 1 rat (25%) of the AR Group with an increase in relation to the reference value, found  $p=0.31$  for both. **Conclusion:** Aroeira extract had no statistically significant microscopic or enzymatic repercussions on the liver after liver ischemia-reperfusion injury.

**Keywords:** Reperfusion. Ischemia. Hepatectomy.

### Introdução

A isquemia hepática (IH) foi descrita pela primeira vez em 1975 por Toledo-Pereyra *et al.*,<sup>1</sup> e desde então, as consequências sobre o fígado, são avaliadas devido a importância da síndrome de isquemia-reperfusão hepática (SIRH)<sup>1</sup>.

Conceitua-se a IH como uma restrição parcial ou total de sangue arterial no fígado, que pode ser uma complicação não planejada em choques hemorrágicos, mas também pode ser um artifício de controle do sangramento para evitar a exsanguinação durante cirurgias. Esse artifício pode ser realizado nas hepatectomias através da manobra de Pringle (oclusão temporária da

triáde portal – artéria hepática, ducto biliar comum e veia), ou nos períodos de isquemia fria (período de preservação do órgão) e de isquemia quente (implante do enxerto) durante o transplante hepático<sup>2,3</sup>.

As repercussões dessa restrição vascular dependem do tempo em que o fígado ficará sem suprimento sanguíneo, mas não há consenso em relação ao período considerado suportável para a IH sem gerar grandes complicações pós-operatórias, falência hepática ou mortalidade. Santos considera que no transplante hepático, por exemplo, após 60 minutos de isquemia quente, observam-se sinais de lesão histológica definitiva e, a partir de 90 minutos, o órgão sofre alterações orgânicas e funcionais que aumentam as chances de mortalidade do receptor<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Médica, Cirurgiã Geral, Mastologista, Especialista em Saúde da Família, Mestranda em Saúde Coletiva. Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

<sup>2</sup> Farmacêutica Generalista. Escola Superior da Amazônia - ESAMAZ.

<sup>3</sup> Médico, Residente em Oftalmologia. Hospital Bettina Ferro de Souza. Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Pará - CHU-UFPA.

<sup>4</sup> Médico. Cirurgião Geral. Doutor em Fisiopatologia Experimental. Universidade de São Paulo - USP.

<sup>5</sup> Médica. Oftalmologista. Especialista em Glaucoma. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

<sup>6</sup> Médico. Cirurgião Geral. Residente em Cirurgia Oncológica. Hospital do Amor.

Contato: Jéssica Mendes Costa de Freitas Santos. E-mail: costajessicamendes@gmail.com

Nesse contexto, o fenômeno isquêmico sem reperfusão precoce é seguido de morte celular devido à ausência de oxigênio, com consequente diminuição energética e de transporte de íons, distúrbios do metabolismo, produção exacerbada de agentes vasoconstritores e aumento do mecanismo de defesa do organismo. Isso pode contribuir para arteriopatia crônica e resposta inflamatória<sup>5</sup>. Além da lesão arterial na IH, há ainda redução do suprimento sanguíneo devido à lesão da microvasculatura por hemoconcentração, anóxia, acidose e alterações da celularidade sanguínea<sup>6,7</sup>.

Já a reperfusão arterial restaura a oxigenação e a viabilidade tecidual; mas, paradoxalmente, os maiores danos são relacionados a esse fenômeno: sua associação com a produção de radicais livres, bem como a redução da perfusão capilar, combina-se à lesão isquêmica, obstruindo o fluxo por isquemia adicional e maior dano às células já lesadas<sup>8,9</sup>.

É imperativa, então, a necessidade de estudar a SIRH para encontrar meios que seus inconvenientes ocorram em menor grau. A importância desse panorama pode ser exemplificada com os resultados de transplantes hepáticos, em que a rejeição aguda está diretamente envolvida com a preservação do órgão e suas estruturas, ou seja, com a necrose hepatocítica e distúrbios hemorrágicos<sup>10</sup>.

Entre as maneiras de se atenuarem as situações indesejadas da SIRH, há o uso de substâncias com ação antioxidante em soluções de preservação durante os transplantes hepáticos<sup>11</sup>; além da hipotermia<sup>12</sup> e do procedimento de pré-condicionamento isquêmico, em que períodos curtos de isquemia são seguidos de etapas correspondentes de reperfusão, prosseguida de uma maior adaptação dos tecidos a um período mais prolongado de isquemia sustentada<sup>13</sup>.

Ainda, para Santos, a associação de drogas para o tratamento de processos inflamatórios constitui-se em moderna terapêutica da SIRH, englobando diferentes mecanismos e etapas desta condição<sup>4</sup>.

Frente a essas considerações, uma das possibilidades seria o emprego experimental de substâncias na IH e avaliação de interferência na SIRH. Nesse contexto, a Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), espécie medicinal nativa do litoral brasileiro e que pode ser facilmente encontrada na flora maranhense, chamou a atenção nos pesquisadores devido suas diversas propriedades médicas divulgadas no rico saber popular e também descritas na literatura científica em estudos fitoterápicos associando essa planta com funções adstringentes, antimicrobianas *in vitro*, antifúngica, antitumoral *in vitro*<sup>14</sup>, mas principalmente cicatrizantes (reparo tecidual) e anti-inflamatórias<sup>15-17</sup>.

O uso medicinal dessa espécie é descrito há muitos anos: a primeira edição da Farmacopéia Brasileira (1926) já referia algumas de suas propriedades<sup>18</sup> e registra suas outras nomenclaturas, como aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-de-praia, entre outras<sup>19</sup>. Novos estudos botânicos sobre essa planta esmiúçam a sua composição e concluem que é rica em flavonoides<sup>19</sup>, uma substância relacionada à potencialização de propriedades anti-inflamatórias, além de triterpenos, antroquinonas e saponinas<sup>20</sup>.

Então, todos os aspectos celulares listados sobre os danos da IH e as propriedades anti-inflamatórias da

*Schinus terebinthifolius* Raddi justificam esta pesquisa, que tem por objetivo conhecer o impacto histológico e enzimático da ingestão de extrato de Aroeira na SIRH em modelo experimental com ratos.

## Métodos

Este estudo foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Maranhão. Foram utilizados 8 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*, linhagem Wistar) provenientes do Biotério da Universidade Estadual do Maranhão, Campus São Luís. Os animais possuíam 90 dias de vida e pesavam entre 200 e 300 gramas. Foram mantidos no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde também foi executado o experimento, ficando dispostos em gaiolas plásticas coletivas de ampla dimensão, com tempo e assoalho recoberto de serragem.

### Preparação do material botânico

O extrato hidroalcoólico da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) foi preparado a partir de 900g da entrecasca seca de árvore adulta, proveniente de uma única planta colhida manualmente, na época de floração, em terreno argilo-arenoso da cidade de Presidente Juscelino - MA. A identidade da planta foi botanicamente confirmada, com catalogação no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão, sob registro de nº 1378. Após coleta, a entrecasca da planta foi seca à temperatura ambiente e, posteriormente em estufa. O material foi triturado e o pó, moderadamente grosso, foi diluído em álcool (EtOH 100%), formando 1350 ml de extrato bruto. Após essa etapa, o material selecionado foi encaminhado ao Laboratório de Produtos Naturais, do Departamento de Química da UFMA, para preparo do extrato refinado através de concentração em evaporador rotativo, sob pressão reduzida, a uma temperatura de 55°C a 60°C, para eliminação total do solvente e posterior diluição da pasta resultante (82,35g) em água destilada.

Para preparação da solução, foram retirados 6g da pasta, diluindo-a em 200 ml de água destilada, sendo armazenada em refrigerador a 10°C. Além disso, foi realizada análise de controle de qualidade por Cromatografia de Camada Delgada Comparativa (CCDC) do extrato bruto da aroeira na proporção 1:1, hexano/acetato de etila e revelado com iodo sublimado. Toda a preparação do extrato de Aroeira segue recomendações clássicas já descritas na literatura<sup>19</sup>.

### Experimento

Os animais foram sorteados aleatoriamente para a formação de dois grupos iguais, sendo um tratado com a diluição final do extrato de Aroeira (AR) e o outro apenas com água destilada.

O grupo AR recebeu durante 10 dias a dose de 100mg/kg, por sonda orogástrica (gavagem), mediante o cálculo da letalidade (DL-50) do extrato hidroalcoólico (7060 mg/kg), sendo administrado uma única vez ao dia. O grupo controle recebeu água destilada à mesma maneira, volume, horário e quantidade de dias

que os animais do grupo AR.

Após os 10 dias de suplementação dietética, os animais foram submetidos a jejum pré-operatório de 12 horas e pesados em balança de precisão, sendo os valores obtidos em gramas; a seguir, foram anestesiados por via intramuscular, em membro inferior direito, com cloridrato de quetamina (80mg/ml) na dose de 1,6mL a 5% por quilo de rato e cloridrato de xilazina (8mg/kg) na dose de 7,5mL a 2% por quilo de rato.

Todos os animais foram posicionados em decúbito dorsal horizontal, com as patas dianteiras e traseiras fixadas em prancha operatória. Realizou-se tricotomia da parede abdominal e a antisepsia da pele. Em seguida, foi realizada laparotomia mediana longitudinal, iniciada no processo xifóide, com 30 mm de extensão. Após a abertura da cavidade peritoneal, as vísceras abdominais e os lobos do fígado foram afastados, para identificação do pedículo hepático, englobando a artéria hepática, veia porta e ducto biliar.

A seguir, o pedículo hepático foi clampeado, conforme o preconizado pela manobra de Pringle, com pinça hemostática vascular curva atraumática de 3 cm durante trinta minutos, provocando a isquemia. As vísceras foram recolocadas na cavidade abdominal e as bordas da parede abdominal foram temporariamente aproximadas com quatro pontos simples equidistantes, com fios de algodão. Transcorridos os trinta minutos, os pontos foram retirados e novamente as vísceras foram mobilizadas, sendo identificadas e removidas a pinça vascular hemostática, iniciando o período de reperfusão. A cavidade abdominal foi fechada novamente e os animais receberam analgésico intramuscular (dipirona) e posteriormente foram acomodados nas gaiolas. O modelo operatório seguiu o protocolo recomendado por diversos autores<sup>2,4,11</sup>. Concluído o procedimento cirúrgico, foi realizada a eutanásia dos animais ainda anestesiados, conseqüente à exsanguinação.

#### **Avaliação histopatológica e laboratorial dos efeitos da SIRH**

Após 8 horas do procedimento, os animais receberam o mesmo tratamento anestésico para retirada dos pontos da parede abdominal e identificação do fígado. O órgão foi inteiramente retirado para exame histopatológico, sendo imersos em frascos individuais, identificados e contendo solução de formaldeído a 10%, por 48 horas. Os espécimes cirúrgicos foram encaminhados ao Laboratório de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra, onde foram preparadas as lâminas sob a coloração Hematoxilina-Eosina e avaliadas de forma cega por um único patologista através de microscopia óptica com aumentos de 100, 200 e 400x.

Na etapa cirúrgica também foi realizada punção cardíaca para retirada de 5 ml de sangue de cada animal, sendo utilizados tubos de coleta heparinizados e estes encaminhados ao Laboratório Gênesis para centrifugação e posterior análise de enzimas hepáticas (alanina aminotransferase - ALT e aspartato aminotransaminase - AST) e de marcador de inflamação sistêmica (Proteína - C reativa - PCR), todos no analisador automático ALCYON 300®. Consideraram-se os seguintes valores de referência<sup>17,18</sup> para esses exames realizados nos roedores: PCR: 0 a 3 mg/L, AST: 75,58 a 80,82 U/L

e ALT: 54,53 a 63,47 U/L.

Para análise histopatológica, foram considerados os seguintes padrões: tumefação hepatocelular; destrabeculação; esteatose hepática; necrose celular; inflamação lobular; inflamação portal; presença de células de Kupffer; lesão dos lóbulos hepáticos; ausência de veia centro lobular; integridade do espaço porta; integridade dos capilares sinusóides; integridade dos núcleos dos hepatócitos e integridade da membrana celular. Em seguida graduados 0 a III, sendo: Grau 0 – ausência de lesão; Grau I – presença discreta e focal; Grau II – presença moderada; Grau III – presença intensa de lesão visível à microscopia.

Os dados foram analisados utilizando-se o programa *Stata*® versão 10.0 onde as variáveis quantitativas foram testadas pelo teste Shapiro-Wilk e para comparação entre os grupos AR e CTR foi utilizado o teste Mc Nemar.

Todo o protocolo obedeceu às normas de experimentação animal do Código de Ética em Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), sob o protocolo nº 19/2012.

#### **Resultados**

No grupo AR, a tumefação hepatocelular e alterações na integridade dos capilares sinusóides foram as alterações mais frequentes (75%). Todos foram classificados como lesão discreta e focal (Grau I), exceto a integridade dos capilares sinusóides (Grau II) em um animal. A esteatose hepática, necrose celular e inflamação lobular apareceram em 50% dos animais sendo: esteatose classificada como Grau I; necrose e inflamação lobular com um animal, cada, classificado como Grau I e outro como Grau II. Em 25% dos animais houve destrabeculação, inflamação portal, presença de células de Kupffer, lesão dos lóbulos hepáticos e alteração nos núcleos dos hepatócitos, sendo todas classificadas como Grau I. No grupo CTR, 100% dos ratos apresentaram pelo menos duas alterações histopatológicas. Alterações Grau I de tumefação hepatocelular, esteatose hepática e mudança da integridade dos capilares sinusóides também foram confirmadas em todos os animais. Necrose celular e diminuição da quantidade de veias centrolobulares apareceram em 25% dos animais, ambas obtendo a classificação de Grau I. Em 50% dos animais observou-se inflamação lobular, classificado como Grau I e outro como Grau II (Tabela 1).

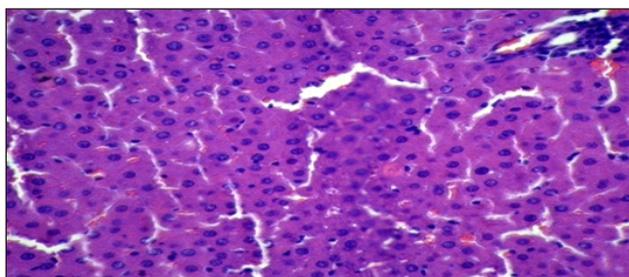
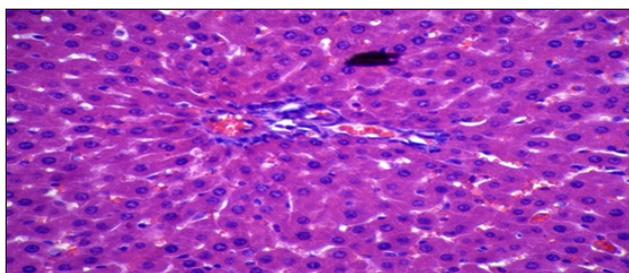
Cortes histológicos evidenciaram as alterações nos grupos AR, na imagem observa-se infiltrado inflamatório, necrose, tumefação celular, discreto extravasamento de hemácias e presença de Células de Kupffer (Figura 1).

No grupo AR apenas 25% dos animais não apresentaram alteração em nenhum dos parâmetros investigados, na imagem observa-se integridade das veias centrolobulares e espaços porta, apresentando singela congestão celular (Figura 2).

Em relação à análise bioquímica, a elevação da proteína C reativa ocorreu de maneira igual nos dois grupos, demonstrando processo inflamatório. Na análise das enzimas hepáticas, apenas 25% dos animais do grupo AR manifestaram aumento em relação aos valores de referência (Tabela 2).

**Tabela 1** - Frequência das alterações histopatológicas estudadas dos roedores dos grupos Aroeira e Controle.

Alterações presentes	Grupo AR		Grupo CTR	
	N	%	n	%
Tumefação celular	3	75,0	4	100,0
Destrabeculação celular	1	25,0	-	-
Esteatose hepática	2	50,0	4	100,0
Necrose celular	2	50,0	1	25,0
Inflamação lobular	2	50,0	2	50,0
Inflamação portal	1	25,0	-	-
Presença de Células de Kupffer	1	25,0	-	-
Lesão de Lóbulos hepáticos	1	25,0	-	-
Alteração em Veia centrolobular	-	-	1	25,0
Ausência de Espaço Porta	-	-	-	-
Ausência em Capilares sinusoidais	3	75,0	4	100,0
Ausência em Núcleos dos hepatócitos	1	25,0	-	-
Ausência em Membrana celular	-	-	-	-

**Figura 1** - Lâmina de animal do Grupo AR. Evidencia-se infiltrado inflamatório lobular, área de necrose, tumefação celular, discreto extravasamento de hemácias e presença de Células de Kupffer.**Figura 2** - Corte histológico de fígado de animal do Grupo CTR. O parênquima hepático apresenta discreta congestão, além de número reduzido de Veias Centrolobulares.**Tabela 2** - Valores absolutos dos exames laboratoriais dos roedores dos grupos Caso e Controle.

Grupos	Ratos	PCR	AST	ALT
Grupo CTR*	1	4,3 mg/L	032 U/L	029 U/L
	2	4,3 mg/L	026 U/L	024 U/L
	3	4,3 mg/L	026 U/L	023 U/L
	4	4,1 mg/L	035 U/L	032 U/L
	5	4,8 mg/L	245 U/L	216 U/L
Grupo AR**	6	3,9 mg/L	014 U/L	019 U/L
	7	4,0 mg/L	036 U/L	034 U/L
	8	4,0 mg/L	028 U/L	025 U/L

\*Grupo Controle. \*\*Grupo Caso.

## Discussão

A Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) foi estudada por Ribas *et al.*,<sup>21</sup> e estes comentaram sobre sua propriedade em rapidamente diminuir a intensidade de um processo inflamatório, pela relação a uma das bases da fisiopatologia da SIRH. No entanto, no presente estudo, os dados encontrados foram incompatíveis com o esperado após lesão de isquemia-reperfusão hepática, embora sem significância estatística, os animais suplementados com extrato de Aroeira desenvolveram maior quantidade de complicações a nível celular.

Observa-se que há controvérsias quanto à comprovação das propriedades da Aroeira que são difundidas no saber popular. Santos *et al.*,<sup>15</sup> referiram que o extrato de Aroeira não alterou o processo de cicatrização de lesões no estômago de ratos. Entretanto o estudo realizado por Branco-Neto *et al.*,<sup>17</sup> demonstrou que o uso de extrato de Aroeira retardou a reepitelização de feridas em pele de ratos.

Frente a essas questões aparecem muitas possibilidades, até mesmo quanto a outras etapas dos métodos, como administrar o extrato por via intraperitoneal, supondo mais rápida absorção devido à superfície a que o extrato entrará em contato<sup>21</sup>.

De acordo com Sousa<sup>22</sup> modelo experimental de isquemia-reperfusão ocorre devido a hipóxia tecidual, consequente da diminuição do fornecimento de oxigênio à célula desencadeando as alterações.

Ainda na fase inicial desse dano ocorre edema das células de Kupffer e há a associação à constricção do lúmen sinusoidal, com consequente disfunção microcirculatória<sup>5,8</sup>. Todos esses eventos justificam vários dos parâmetros histopatológicos encontrados no presente estudo: congestão hepatocelular, tumefação de sinusoides, destrabeculação, hemorragia e necrose.

Tão importante quanto a fase inicial é a fase tardia da SIRH, pois há a reintrodução de fluxo circulatório e posterior geração de radicais livres, aumento de citocinas e ativação de células inflamatórias, assim como ocorre recrutamento de leucócitos polimorfonucleares para o tecido reperfundido, visando o reparo dessa injúria<sup>1</sup>. Percebeu-se, então, que os parâmetros investigados são justificados, tais como infiltração inflamatória com neutrófilos e ativação das Células de Kupffer.

A pesquisa de um reagente inflamatório de fase aguda neste processo é essencial, a proteína C reativa esteve aumentada em todos os animais da pesquisa, previstos por ocasião do estresse cirúrgico a que os animais foram submetidos e da lesão de isquemia-reperfusão que foi induzida. De acordo com Walsh *et al.*,<sup>1</sup> essa proteína apresenta-se como um marcador de baixa sensibilidade, sendo importante a investigação das interleucinas, para avaliar mais precisamente o processo inflamatório predito.

Na isquemia, as alterações promovidas estão diretamente relacionadas à redução energética, o que repercute na lesão celular e pode ser avaliado pelas aminotransferases AST e ALT<sup>5,8</sup>. No presente estudo, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na atividade das aminotransferases, o que pode ser justificado pelo tempo de isquemia-reperfusão utilizado.

Segundo a classificação de Chaves<sup>10</sup> a lesão causada foi de grau leve, como se percebe pelas medi-

das laboratoriais, pois houve integridade de quase todos os cortes histológicos em relação à veia centrolobular e ao espaço porta. Essa hipótese baseia-se no conhecimento de que as injúrias da veia centrolobular e do espaço porta traduzem gravidade, já que sua lesão acontece mais tardiamente em relação a outros componentes hepatocelulares, bem como o espaço porta que é atingido tardiamente pelo processo de resposta à agressão e costuma ser ainda mais resistente que a veia centrolobular.

## Referências

- Walsh KB, Toledo AH, Rivera-Chavez FA, Lopez-Nebolina F, Toledo-Pereyra LH. Inflammatory mediators of liver ischemia-reperfusion injury. *Exp Clin Transplant*, 2009; 7(2): 78-93.
- Silva FN. Isquemia hepática normotérmica em ratos: estudo da lesão celular através do uso de clampamento pedicular contínuo e intermitente. *Rev Col Bras Cir*, 2002; 29(6): 342-348.
- Hirano ES, Mantovani M, Morandin RC. Isquemia e reperfusão hepática total em condições de normalidade e sob estado de choque hemorrágico controlado: efeitos no sequestro de neutrófilos no rim do rato. *Acta Cir Bras*, 2005; 20(4): 292-299.
- Santos VR. *Isquemia-reperfusão hepática em ratos: efeitos da administração endovenosa da solução salina hipertônica a 7,5% associada a pentoxifilina* [Tese de Doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2010. 90 f.
- Miranda LEC, Viaro F, Ceneviva R, Evora PRB. As bases experimentais da lesão por isquemia e reperfusão do fígado: revisão. *Acta Cir Bras*, 2004; 19(1): 1-12.
- Seabra ALR, Savassi-Rocha PR, Vasconcelos AC, Lima AS, Rodrigues KCL, Almeida HM. Lesão de isquemia e reperfusão após clampagem contínua ou intermitente do pedículo hepático em coelhos. *ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo)*, 2012; 25(2): 105-109.
- Yu S, Guo Y, Zhang W, Zheng L, Ren J, Jin J *et al.* Effects of propofol pretreatment on myocardial cell apoptosis and SERCA2 expression in rats with hepatic ischemia/reperfusion. *Brazilian J Anesthesiol*, 2018; 68(6): 591-596.
- Castro e Silva Júnior O, Centurion S, Pacheco EG, Brisotti JL, Oliveira AF, Dal Sasso K. Basics aspects of the ischemia reperfusion injury and of the ischemic preconditioning. *Acta Cir Bras*, 2002; 17(Suppl. 3): 96-100.
- Medeiros FC, Silveira MH, Gomes MS. *Lesão por isquemia e reperfusão hepática: reação em cadeia causada pela ação de radicais livres durante procedimentos cirúrgicos*. Anais do III Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar & I Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar; 2018 maio 21-23; Mineiros: Unifimes; 2018.
- Chaves JC. *Estudo morfológico do fígado de ratos na isquemia-reperfusão sob oxigenação hiperbárica*. Universidade Federal de São Paulo; 2006.
- Andraus W. *Estudo do efeito da S-nitroso-N-acetilcisteína na lesão de isquemia/reperfusão em fígado esteatótico de ratos* [Tese de Doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007; 78 p.
- Fraga RS. *S-Nitroso-N-Acetilcisteína (SNAC) na preservação de fígados de ratos: Análise do seu efeito no dano precoce de isquemia/reperfusão* [Tese de Doutorado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009. 76 p.
- Souza MAG. *Avaliação morfológica e imunohistoquímica tardia do fígado e do pulmão após lesão de isquemia e reperfusão hepática seletiva com modulação pelo condicionamento isquêmico ou pela N-acetilcisteína*. [Tese de Doutorado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007. 81 f.
- Ramos DBM, Araújo MTMF, Araújo TCL, Neto OGS, Silva MG, Silva YA *et al.* Evaluation of antitumor activity and toxicity of Schinus terebinthifolia leaf extract and lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice. *J Ethnopharmacol*, 2019; 233: 148-157.
- Santos OJ, Ribas Filho JM, Czezczko NG, Castelo Branco Neto ML, Naufel C, Ferreira LM *et al.* Evaluation of aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi) extract on the healing process of gastrography in rats. *Acta Cir Bras*, 2006; 21(Suppl 2):39-45.
- Azevedo CF, Quirino ZGM, Bruno RLA. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (Schinus terebinthifolius Raddi, anacardiaceae). *Rev Bras Plantas Med*, 2015; 17(1): 95-102.
- Branco Neto MLC, Ribas Filho JM, Malafaia O, Oliveira Filho MA, Czezczko NG, Aoki S *et al.* Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. *Acta Cir Bras*, 2006; 21(Suppl. 2): 15-20.
- Lucena PLH, Ribas Filho JM, Mazza M, Czezczko NG, Dietz UA, Correa Neto MA *et al.* Evaluation of the aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi) in the healing process of surgical incision in the bladder of rats. *Acta Cir Bras*, 2006; 21 (Suppl 2): 46-51.
- Nishimoto KS, Souza MDS. *Extração do óleo essencial da Schinus terebinthifolius raddi e avaliação da eficiência bactericida do sabonete desenvolvido* [Monografia]. São José dos Campos (SP): Universidade do Vale do Paraíba; 2016. 42 f.
- Rocha PS, Boleti APA, Vieira MC, Carollo CA, Silva DB da, Estevinho LM *et al.* Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of Schinus terebinthifolius Raddi. *Comp Biochem Physiol Part - C Toxicol Pharmacol*, 2019; 220: 36-46.
- Ribas MO, Sousa MH, Sartoretto J, Lanzoni TA, Noronha L, Acra LA. Efeito da Schinus terebinthifolius Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. *Rev Odontol Ciênc*, 2006; 21(53): 245-252.
- Sousa MH. *Efeito do extrato de Schinus terebinthifolius Raddi sobre osteites induzidas em maxilares de ratos* [Dissertação]. Curitiba (PR): Pontifícia Universidade Católica do Paraná; 2004. 173 f.