

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

**Influência do pré-condicionamento isquêmico do fígado na concentração hepática dos
ácidos graxos - estudo experimental em ratos.**

Livia Paola Colchete Provenzano

RIO DE JANEIRO

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

Influência do pré-condicionamento isquêmico do fígado na concentração hepática dos ácidos graxos - estudo experimental em ratos.

Livia Paola Colchete Provenzano

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Ciências Cirúrgicas.

Orientador: Prof.Dr. José Marcus Raso Eulálio

Coorientador: Prof.Dr. Joaquim Ribeiro Filho

Rio de Janeiro

2025

CIP - Catalogação na Publicação

P969i Provenzano, Livia Paola Colchete
Influência do pré-condicionamento isquêmico do
fígado na concentração hepática dos ácidos graxos -
estudo experimental em ratos. / Livia Paola Colchete
Provenzano. -- Rio de Janeiro, 2025.
129 f.

Orientador: José Marcus Raso Eulálio.
Coorientador: Joaquim Ribeiro Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Cirúrgicas, 2025.

1. Pré-condicionamento isquêmico do fígado. 2.
Ácidos Graxos nas Hepatectomias. 3. Injúria
Hepática por Isquemia e Reperfusão. 4. Inflamação.
5. Cirurgia Experimental. I. Eulálio, José Marcus
Raso, orient. II. Ribeiro Filho, Joaquim, coorient.
III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

Influência do pré-condicionamento isquêmico do fígado na concentração hepática dos ácidos graxos - estudo experimental em ratos.

Lívia Paola Colchete Provenzano

Orientador:

Prof.Dr. José Marcus Raso Eulálio

Coorientador:

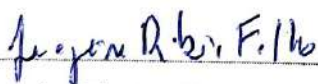
Prof.Dr. Joaquim Ribeiro Filho

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Cirúrgicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Cirúrgicas.

Aprovada em: 26 / 08 / 2025



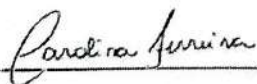
Prof. Dr. José Marcus Raso Eulálio



Prof. Dr. Joaquim Ribeiro Filho



Prof. Dr. Mauro Paes Leme de Sá



Profa. Dra. Carolina dos Santos Ferreira

Rio de Janeiro

2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos aqueles que me precederam nas pesquisas acadêmicas de toda e qualquer matéria.

Àqueles que são inspiração, que são incansáveis, que trabalham nos bastidores buscando, tentando, experimentando. Sem muita certeza do que irão encontrar, não se abatem e continuam firmes no propósito de comprovar interações, vias, mecanismos e correlações.

O farol é a esperança de que o conhecimento do processo permita o desenvolvimento de estratégias de alto impacto na qualidade de vida das pessoas.

Sem estes cientistas, muitas vezes incompreendidos pela sociedade que tanto usufrui de suas descobertas, seria impossível.

Não há como não dedicar este estudo àqueles que colocaram, uma a uma, as pedras que pavimentaram o caminho que percorri para elaborar esta dissertação.

Hoje, ela é mais uma peça do calçamento infinito do saber, e que honra poder colocá-la dividindo espaço com os autores que admiro.

Por isso, à toda a comunidade científica, dedico esta produção.

AGRADECIMENTOS

Em primeiríssimo lugar a Deus, autor da fascinante obra que é o ser humano, que buscamos incessantemente conhecer e que, somente somos capazes, pelo dom da inteligência que também Dele provém.

À Santíssima Trindade, à Nossa Senhora, rainha e mãe, a todos os Santos e Anjos de Deus que intercederam por mim e me guiaram na fé, mesmo quando as dificuldades inerentes à vida acadêmica muito me desanimaram.

Aos meus pais, por todas as orações silenciosas em meu favor e por suportarem e compreenderem a minha ausência, a redução na minha capacidade de ser rede de apoio para dedicar-me ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu tio Antonio, minha maior inspiração na busca do saber.

À minha amiga Kamila, que fez dos meus projetos, seus projetos. Que cuidou de mim e de tudo a minha volta com um amor abnegado, que jamais vi igual, para que eu pudesse me concentrar somente nesta pesquisa e alcançar o êxito naquilo que aspirei.

Ao meu amigo Anderson, que se fez ouvidos para meus desabafos e me abasteceu muitas vezes com essenciais injeções de ânimo.

Ao meu psicólogo Luís Paulo, por me ajudar a suportar as pressões e por compreender meu absenteísmo na reta final para a defesa.

Ao Professor José Eduardo Ferreira Manso e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Cirúrgicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro pela marcada generosidade na transmissão do saber.

Ao meu orientador, Professor José Marcus Raso Eulálio, pela paciência paternal, pelas falas sempre gentis e incentivo precisamente equilibrado entre o carinho e o profissionalismo.

Ao meu coorientador, Professor Joaquim Ribeiro Filho, por abrilhantar este trabalho com seu vasto conhecimento e sua humildade.

À Marinha do Brasil, ilustre organização na qual tenho a honra de servir, por demonstrar sua confiança em mim ao me designar para realização deste curso, possibilitando meu aprimoramento acadêmico e profissional. Reafirmo meu respeito e compromisso em reverter este aprendizado em benefício da instituição que tão generosamente apoiou minha formação.

Ao Professor Ruy Garcia Marques, pela educação e elegância em me auxiliar na resolução de problemáticas do percurso.

À Professora Márcia Cury El-Cheikh do Laboratório de Proliferação e Diferenciação Celular pela parceria, disponibilidade, ombro amigo e apoio sempre presente, mesmo nas adversidades.

À Professora Tatiana El-Bacha Porto e à Dra. Carolina dos Santos Ferreira, do Instituto de Nutrição Josué de Castro, pela colaboração com a principal parte deste trabalho, pelas horas dedicadas a ele, pela paciência no esclarecimento das dúvidas e pela relação interpessoal leve e doce em todos os momentos.

Aos colegas Daniel Filisberto Schulz e Joana Mona e Pinto pelo compromisso com a ciência e trato respeitoso, polido e amável.

Aos funcionários do Laboratório de Emergência do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, pela cordialidade e presteza no recolhimento e processamento das amostras.

Aos veterinários Dr. Marcus Vinícius Alves da Silva e Ma. Jenif Braga de Souza, pelas orientações, pela ética e comprometimento notável com todos os alunos que os procuram.

E, por fim, aos técnicos de biotério Cláudio Sergio Correa Lou Junior e Gezileia Barcelos Lau, pelo carinho, acolhimento, torcida, pró-atividade e tantos outros atributos que foram fundamentais para o andamento deste trabalho.

EPÍGRAFE

"Um pouco de ciência afasta-nos de Deus. Muito, aproxima-nos."

Louis Pasteur.

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da publicação:

Adaptado do Guia para elaboração de referências - Vancouver - ICMJE.

Universidade Federal do Rio de Janeiro. Sistema de bibliotecas e informação - Sibi. Manual de Procedimentos, n. 05. Manual para elaboração e normalização de dissertações e teses. Coordenado por Paula Maria Abrantes Cotta e Mello e organizado por Amanda Moura de Sousa, Elaine Baptista de Matos Paula, Eneida de Oliveira, Érica dos Santos Resende e Lúcia da Costa Oliveira. 8.ed. rev. atual. e ampl. Em 2022.

RESUMO

Provenzano, Livia Paola Colchete. Influência do pré-condicionamento isquêmico do fígado na concentração hepática dos ácidos graxos - estudo experimental em ratos. Dissertação de Mestrado em Ciências Cirúrgicas. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Introdução: A análise proposta neste estudo busca contribuir com a compreensão da função do pré-condicionamento isquêmico do fígado no comportamento dos ácidos graxos nas hepatectomias.

Objetivo: Avaliar se o pré-condicionamento isquêmico do fígado interfere na concentração hepática de ácidos graxos nas hepatectomias.

Métodos: Vinte e quatro ratos Wistar foram distribuídos em 3 grupos: 8 para o GS - Grupo Sham, 8 para o GSPC - Grupo Sem Pré-Condicionamento e 8 para o GCPC - Grupo Com Pré-Condicionamento. No primeiro dia do experimento, foram efetuadas coleta sanguínea e laparotomia mediana, em todos os animais. Quatro ratos do GS foram submetidos à manipulação do fígado e ressecção hepática completa, sem isquemia, seguida de eutanásia, por sobredose anestésica e nos outros quatro, houve apenas a manipulação do fígado. No GSPC, foi realizada uma hepatectomia de 70% do parênquima sob 10 minutos ininterruptos de isquemia. O GCPC foi submetido a uma isquemia transitória do fígado, através do clampeamento do hilo hepático por 10 minutos, seguido de 10 minutos de reperusão, antes dos 10 minutos da isquemia para a ressecção do espécime cirúrgico. No segundo dia, todos os grupos foram submetidos à nova coleta sanguínea e à remoção do completa do tecido hepático existente, seguido de eutanásia, por sobredose anestésica. No tecido sanguíneo foi realizada a análise bioquímica e, no hepático, foram obtidos os preparos histológicos, além da extração, através de cromatografia líquida, dos ácidos Palmítico, Esteárico, Palmitoleico, Oleico, Alfa-Linolênico, Eicosapentaenóico, Docosahexaenóico, Linoleico, Gama-Linolênico, Dihomo-Gama-Linolênico, Araquidônico e Docosapentaenóico n-6.

Resultados: Observamos, no D1, concentrações maiores de AST no GSPC quando comparamos ao GCPC ($699,75 \pm 209,65$ versus $483,00 \pm 109,68$; $p = 0.05$, EP 2.922). Nos parâmetros histológicos, houve presença mais acentuada de congestão sinusoidal ($12,75 \pm$

2,43 *versus* 8,38 $\pm$ 1,59; $p = 0.01$), infiltrado neutrofílico (3,25 $\pm$ 1,58 *versus* 0,38 $\pm$ 0,51; $p < 0.01$), de células de Kupffer hemofagocitando (9,13 $\pm$ 1,64 *versus* 5,50 $\pm$ 2,13; $p = 0.01$) e de esteatose (6,38 $\pm$ 3,16 *versus* 2,13 $\pm$ 3,68; $p = 0.02$) no D0 do GCPC quando comparamos ao D0 do GSPC. Comparando estes dois grupos no D1, esta diferença se manteve significativa apenas para o infiltrado neutrofílico (5,75 $\pm$ 1,98 *versus* 1,38 $\pm$ 1,18, $p < 0.01$). A análise dos ácidos graxos demonstrou uma produção significativamente menor no D0 do GCPC quando comparamos ao D0 do GSPC para os ácidos: Araquidônico (423,92 $\pm$ 169,64 *versus* 736,92 $\pm$ 232,36; $p < 0.01$), Docosaheptaenóico (69,96 $\pm$ 32,50 *versus* 128,44 $\pm$ 46,56; $p = 0.01$) e Dihomo-Gama-Linolênico (12,47 $\pm$ 3,32 *versus* 19,97 $\pm$ 4,49; $p < 0.01$), que se manteve no D1: Ácido Araquidônico (342,39 $\pm$ 115,44 *versus* 647,86 $\pm$ 265,93; $p < 0.02$), Ácido Docosaheptaenóico (52,36 $\pm$ 23,14 *versus* 115,32 $\pm$ 53,67; $p < 0.01$) e Ácido Dihomo-Gama-Linolênico (12,06 $\pm$ 6,39 *versus* 22,83 $\pm$ 7,83; $p < 0.01$). Por fim, a atividade enzimática não demonstrou diferença entre os dois grupos, porém o GSPC exibiu, isoladamente, aumento da atividade de SCD-1 sobre o Ácido Palmítico, no D0 e no D1, e de Δ -6 dessaturase, além de diminuição da atividade de Δ -5 dessaturase. E, em conjunto com o GCPC, apresentou aumento na atividade de SCD-1 sobre o Ácido Esteárico, no D1.

Conclusão: A hepatectomia de 70% realizada em ratos, sob isquemia contínua de 10 minutos, com ou sem pré condicionamento, acarreta alterações significativas e diferenciadas na concentração hepática geral e individual dos ácidos graxos. Estas alterações, no grupo submetido ao pré-condicionamento isquêmico, se relacionam à restauração das alterações histológicas e bioquímicas observadas nos animais que não receberam o condicionamento isquêmico antes da hepatectomia e à preservação da atividade das enzimas que metabolizam os ácidos graxos poliinsaturados das séries ômega-3 e -6, demonstrando assim, o efeito hepatoprotetor desta estratégia.

Descritores: Pré-condicionamento isquêmico; Ácidos graxos; Cirurgia hepática; Lipidômica.

ABSTRACT

Provenzano, Livia Paola Colchete. Influência do pré-condicionamento isquêmico do fígado na concentração hepática dos ácidos graxos - estudo experimental em ratos. Dissertação de Mestrado em Ciências Cirúrgicas. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Background: The analysis proposed in this study seeks to contribute to the understanding of the role of ischemic preconditioning of the liver in the behavior of fatty acids in liver surgeries.

Objective: To assess whether ischemic preconditioning of the liver interferes with the hepatic concentration of fatty acids in hepatectomies.

Method: Twenty four Wistar rats were distributed into 3 groups: 8 to the SG - Sham Group, 8 to the NPCG - No Pre-Conditioning Group and 8 to the PCG - Pre-Conditioning Group. On the first day of the experiment, blood collection and median laparotomy were performed on all animals. Four rats from the SG underwent liver manipulation and completely hepatic resection, followed by death without suffering, due to anesthetic overdose, the others four only had the liver manipulated. At NPCG, a hepatectomy of 70% of the parenchyma was performed under 10 uninterrupted minutes of ischemia. The PCG was subjected to transient ischemia of the liver by clamping the hepatic hilum for 10 minutes, followed by 10 minutes of reperfusion, before 10 minutes of ischemia for resection of the surgical specimen. On the second day, all groups underwent a new blood collection and complete removal of the existing liver tissue, followed by death without suffering, due to anesthetic overdose. Biochemical analysis was performed on the blood tissue and from the liver histological preparations were obtained, in addition to the extraction, through liquid chromatography, of Palmitic, Stearic, Palmitoleic, Oleic, Alpha-Linolenic, Eicosapentaenoic, Docosahexaenoic, Linoleic, Gamma-Linolenic, Dihomo-Gamma-Linolenic, Arachidonic and Docosapentaenoic n-6 acids..

Outcomes: We observed, on D1, higher AST of NPCG when compared to PCG ($699,75 \pm 209,65$ *versus* $483,00 \pm 109,68$; $p = 0.05$, SE 2.922). In the histological parameters, there was a more pronounced presence of sinusoidal congestion ($12,75 \pm 2,43$ *versus* $8,38 \pm 1,59$; $p = 0.01$), neutrophilic infiltrate ($3,25 \pm 1,58$ *versus* $0,38 \pm 0,51$; $p < 0.01$), hemophagocytizing

Kupffer cells ($9,13 \pm 1,64$ *versus* $5,50 \pm 2,13$; $p = 0.01$) and steatosis ($6,38 \pm 3,16$ *versus* $2,13 \pm 3,68$; $p = 0.02$) on D0 of PCG when compared to D0 of NPCG. Comparing these two groups on D1, this difference remained significant only for the neutrophilic infiltrate ($5,75 \pm 1,98$ *versus* $1,38 \pm 1,18$, $p < 0.01$). Finally, the analysis of fatty acids demonstrated a significantly lower production on D0 of PCG when compared to D0 of NPCG for the following acids: Arachidonic (423.92 ± 169.64 *versus* 736.92 ± 232.36 ; $p < 0.01$), Docosahexaenoic (69.96 ± 32.50 *versus* 128.44 ± 46.56 ; $p = 0.01$) and Dihomo-Gamma-Linolenic (12.47 ± 3.32 *versus* 19.97 ± 4.49 ; $p < 0.01$), which remained on D1: Arachidonic Acid (342.39 ± 115.44 *versus* 647.86 ± 265.93 ; $p < 0.02$), Docosahexaenoic Acid (52.36 ± 23.14 *versus* 115.32 ± 53.67 ; $p < 0.01$) and Dihomo-Gamma-Linolenic Acid (12.06 ± 6.39 *versus* 22.83 ± 7.83 ; $p < 0.01$). Finally, the enzymatic activity showed no difference between the two groups, however, NPCG exhibited, singly, an increase in the activity of SCD-1 on Palmitic Acid, on D0 and D1, and of Δ -6 desaturase, in addition to a decrease in the activity of Δ -5 desaturase. And, together with PCG, it showed an increase in the activity of SCD-1 on Stearic Acid, on D1.

Conclusion: A 70% hepatectomy performed in rats under continuous ischemia for 10 minutes, with or without preconditioning, results in significant and differentiated changes in the overall and individual hepatic concentration of fatty acids. These changes, in the group submitted to ischemic preconditioning, are related to the restoration of the histological and biochemical alterations observed in animals that did not receive ischemic conditioning before hepatectomy and to the preservation of the activity of the enzymes that metabolize polyunsaturated fatty acids of the omega-3 and -6 series, thus demonstrating the hepatoprotective effect of this strategy.

Keywords: Ischemic preconditioning; Free fatty acids; Liver surgery; Lipidomic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Vascularização hepática	27
Quadro 1 - Fatores de risco para IHPO	30
Figura 2 - Principais testes preditores da IHPO	31
Figura 3 - Lesões por isquemia e reperfusão	37
Figura 4 - Manobra de Pringle	40
Figura 5 - Ciclo de Lands	43
Figura 6 - Vias metabólicas dos Ácidos Graxos Poliinsaturados Ômega-3 e -6	47
Quadro 2 - Grupos experimentais	51
Figura 7 - Clampeamento do pedículo hepático	52
Figura 8 - Coleta sanguínea do rato por punção da veia gengival	54
Gráfico 1 - Enzima hepática ALT, por grupo, no D1	59
Gráfico 2 - Enzima hepática AST, por grupo, no D1	59
Quadro 3 - Escala de pontuação histológica	60
Gráfico 3 - Parâmetro histológico Necrose, no D0	61
Gráfico 4 - Parâmetro histológico Congestão Sinusoidal, no D0	61
Gráfico 5 - Parâmetro histológico Infiltrado Neutrofílico, no D0	62
Gráfico 6 - Parâmetro histológico Kupffer Hemofagocitando, no D0	62
Gráfico 7 - Parâmetro histológico Esteatose, no D0	63
Gráfico 8 - Parâmetro histológico Necrose, no D1	64
Gráfico 9 - Parâmetro histológico Congestão Sinusoidal, no D1	64
Gráfico 10 - Parâmetro histológico Infiltrado Neutrofílico, no D1	65
Gráfico 11 - Parâmetro histológico Kupffer Hemofagocitando, no D1	65
Gráfico 12 - Parâmetro histológico Esteatose, no D1	66
Figura 9 - Histologia de animal do Grupo Sham, D1	67
Figura 10 - Histologia de animal do Grupo Sem Pré-Condicionamento, D1	67
Figura 11 - Histologia de animal do Grupo Com Pré-Condicionamento, D1	68
Figura 12 - Histologia de animal do Grupo Com Pré-Condicionamento, D1 - mitose	68
Gráfico 13 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Palmítico	70
Gráfico 14 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Esteárico	71

Gráfico 15 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Palmitoleico.....	73
Gráfico 16 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Oleico	74
Gráfico 17 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Alfa-Linolênico	75
Gráfico 18 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Eicosapentaenóico	76
Gráfico 19 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Docosahexaenóico.....	78
Gráfico 20 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Linoleico.....	79
Gráfico 21 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Gama-Linolênico.....	80
Gráfico 22 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Dihomo-Gama-Linolênico ...	82
Gráfico 23 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Araquidônico	83
Gráfico 24 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Docosapentaenóico n-6	84
Gráfico 25 - Comparativo da concentração hepática dos Ácidos Graxos Totais.....	85
Gráfico 26 - Comparativo da atividade estimada de Δ -5 Dessaturase.....	91
Gráfico 27 - Comparativo da atividade estimada de Δ -6 Dessaturase.....	92
Gráfico 28 - Comparativo da atividade estimada de SCD-1 sobre o Ácido Palmítico	94
Gráfico 29 - Comparativo da atividade estimada de SCD-1 sobre o Ácido Esteárico	94
Quadro 4 - Síntese das alterações dos grupos Sem e Com Pré-Condicionamento em comparação ao Grupo Sham.....	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Enzimas hepáticas, por grupo	59
Tabela 2 - Médias dos parâmetros histológicos	66
Tabela 3 - Concentração hepática do Ácido Palmítico, por grupo	69
Tabela 4 - Concentração hepática do Ácido Esteárico, por grupo	71
Tabela 5 - Concentração hepática do Ácido Palmitoleico, por grupo	72
Tabela 6 - Concentração hepática do Ácido Oleico, por grupo	74
Tabela 7 - Concentração hepática do Ácido Alfa-Linolênico, por grupo	75
Tabela 8 - Concentração hepática do Ácido Eicosapentaenóico, por grupo	76
Tabela 9 - Concentração hepática do Ácido Docosahexaenóico, por grupo	77
Tabela 10 - Concentração hepática do Ácido Linoleico, por grupo	79
Tabela 11 - Concentração hepática do Ácido Gama-Linolênico, por grupo	80
Tabela 12 - Concentração hepática do Ácido Dihomo-Gama-Linolênico, por grupo	81
Tabela 13 - Concentração hepática do Ácido Araquidônico, por grupo	83
Tabela 14 - Concentração hepática do Ácido Docosapentaenóico n-6, por grupo	84
Tabela 15 - Concentração hepática dos Ácidos Graxos Totais, por grupo	85
Tabela 16 - Síntese dos resultados dos Ácidos Graxos, no D0	87
Tabela 17 - Síntese dos resultados dos Ácidos Graxos, no D1	89
Tabela 18 - Estimativa da atividade de Δ -5 Dessaturase, por grupo	90
Tabela 19 - Estimativa da atividade de Δ -6 Dessaturase, por grupo	92
Tabela 20 - Estimativa da atividade de SCD-1, por grupo	93

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrila
ALBI	Albumin-Bilirubin
ASC	Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domains
CYP	Citocromo P450
D0	Primeiro dia do experimento
D1	Segundo dia do experimento
<i>et al.</i>	<i>et alia</i>
FIB-4	Fibrosis-4
H ₂ O	Água
IPA-MeOH	Isopropanol-metanol pré-frio
LiMax	Liver maximum capacity
M1	Estado de ativação pró-inflamatória dos macrófagos
M2	Estado de ativação anti-inflamatória dos macrófagos
MaR1	Maresina 1
MaR2	Maresinas 2
PD1/PDX	Protectinas
RvD	Resolvinas da série D
RvE	Resolvinas da série E

LISTA DE SIGLAS

15-HETrE	15-Hydroxyeicosatrienoic Acid
2D-SWE	2-Dimensional Shear Wave Elastography
3DCT	3-Dimensional reconstructions of contrast-enhanced computed tomography images
4-HNE	4-Hydroxy-2-NonEnal
AA	Ácido Araquidônico
ACOX	Acyl Coenzyme A Oxidase
AGL	Ácido Graxo Livre
AGS	Ácidos Graxos Saturados
AGP	Ácidos Graxos Poliinsaturados
AGM	Ácidos Graxos Monoinsaturados
ALA	Alfa-Linolenic Acid
ALPPS	Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy
ALT	ALanine Transferase
ALXR	A4 Lipoxin Receptor
AMPK	Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase
APRI	Aspartate transferase to Platelet Ratio Index
AST	ASpartate Transferase
ATP	Adenosine TriPhosphate
BS	Bilirrubina Sérica
Bcl2	B-cell lymphoma 2
CA	Corpos apoptóticos
CCE	Centro de Cirurgia Experimental
CD36	Cluster de Diferenciação 36
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CKu	Célula de Kupffer
COX-1	CicloOXigenase-1
COX-2	CicloOXigenase-2
CPT-I	Carnitine PalmitoylTransferase I

CYP	Cytochrome P450
cPLA2	cytosolic PhosphoLipase A2
DAG	Di-Acil Glicerol
DAMP	Damage-Associated Molecular Patterns
DGLA	Dihomo-Gama-Linonelic Acid
DHA	Docosahexaenoic Acid
DPA n-6	Docosapentaenoic Acid n-6
EET	Epoxyeicosatrienoic Acid
eNOS	endothelial Nitric Oxide Syntase
EPA	Eicosapentaenoic Acid
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
ESI	ElectroSpray Ionization
ET1	Endotelina-1
EP	Erro padrão
EP2	E-Prostaglandin receptor 2
EP4	E-Prostaglandin receptor 4
FADS 1	Fatty Acid Desaturase 1
FADS 2	Fatty Acid Desaturase 2
G α_s	Gs α subunit
GC-FID	Gas Chromatography with Flame Ionization Detection
GCPC	Grupo Com Pré-Condicionamento
Gd-EOB-DTPA	Gadolinium EthOxyBenzyl DiethyleneTriamine Pentaacetic Acid
GGPPS	Geranylgeranyl diphosphate synthase
GLA	Gama-Linolenic Acid
GPCR	G-protein coupled receptor
GPx	Glutational Peroxidase
GS	Grupo sham
GSPC	Grupo Sem Pré-Condicionamento
HIF	Hypoxia-Inducible Gactors
HMGB-1	High Mobility Group Box 1
HO-1	Heme-Oxygenase 1

HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
I/R	Isquemia e Reperusão
ICAM-1	InterCellular Adhesion Molecule 1
ICG	IndoCyanine Green
IDL	Intermediate-density lipoprotein
IHPO	Insuficiência Hepática Pós Operatória
IL-1	Interleucina 1
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-23	Interleucina 23
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea
INJC	Instituto de Nutrição Josué de Castro
ISGLS	Internacional Study Group of Liver Surgery
J3-IsoPs	J3-IsoProstanes
Keap-1	Kelch-like ECH-associated protein 1
LA	Linoleic Acid
LCE	Laboratório de Cirurgia Experimental
LDL	Low-density lipoprotein
LOX	Lipoxigenases
LPDC	Laboratório de Proliferação e Diferenciação Celular
LPS	Lipopolissacarídeos
LT	Leukotriene
LTB4	Leukotriene B4
LTB5	Leukotriene B5
LT-NK	Natural killer T lymphocytes
LXA4	Lipoxina da série 4
LXR	Liver X receptors
M2BPGi	Mac-2 binding protein glycosylation isomer
MAC	Membrane attack complex

MDA	Malondialdehyde
MELD	Model for End-Stage Liver Disease
MRE	Magnetic resonance elastography
NF- κ B	Nuclear factor- κ B
NO	Nitric Oxide
NLR	NOD-like receptor
Nrf-2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
PAMP	Pathogen-associated molecular patterns
PBS	Phosphate-buffered saline
PCI	Pré condicionamento isquêmico
PCR	Proteína C Reativa
PG	Prostaglandina
PGA1	Prostaglandin A1
PGE1	Prostaglandin E1
PGE2	Prostaglandin E2
PGE3	Prostaglandin E3
PI3K/AKT	Phosphatidylinositol-3 Kinase/Protein-Kinase B
PKC	Protein kinase C
PPARs	Peroxisome proliferator-activated receptors
PRR	Pattern-recognition receptors
pSWE	Point shear wave elastography
PTTa	activated Partial Thromboplastin Time
PVE	Portal vein embolization
RE	Retículo endoplasmático
RNI	Razão Normalizada Internacional
RNM	Ressonância nuclear magnética
SCD-1	Stearoyl-CoA Desaturase 1
SOD	Superóxido dismutase
SPM	Specialized pro-resolving mediators
SREBP	Sterol regulatory element-binding proteins
Tc-99m-GSA	Technetium-99m galactosyl serum albumin

TGF- β	Transforming Growth Factor Beta
TLR4	Toll-like receptor
TNF- α	Tumor necrosis factor <i>alfa</i>
TX	Thromboxane
TXA2	Thromboxane A2
TXA3	Thromboxane A3
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1
VCTE	Vibration-controlled transient elastography
VE	Vesículas extracelulares
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
XO	Xantina-oxidase

LISTA DE SÍMBOLOS

°	Grau
°C	Grau Celsius
-	Negativo
:	Para
%	Porcento
+	Positivo
μL	MicroLitro
μL/min	MicroLitro por minuto
μmol/L	MicroMol por Litro
Ca ²⁺	Cálcio
cm	Centímetro
g	Grama
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
K ⁺	Potássio
L/h	Litro por hora
mg	Miligramma
mg/dL	Miligramma por deciLitro
mg/Kg	Miligramma por Kilogramma
mg/mL	Miligramma por miliLitro
min	Minuto
mL	MiliLitro
mL/min	MiliLitro por minuto
mm	Milímetro
mmHg	Milímetros de Mercúrio
Na ⁺	Sódio
rpm	Rotações por minuto
UI/mL	Unidade Internacional por miliLitro
U/L	Unidade por Litro
V	Volt

$\times$	Veze
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
Δ	Delta
$>$	Maior que
$<$	Menor que
$=$	Igual a
$\leq$	Menor ou igual a
$\pm$	Desvio para mais ou para menos
$\uparrow$	Aumento
$\downarrow$	Diminuiçã

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	26
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
2.1	INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA PÓS OPERATÓRIA.....	29
2.2	INJÚRIA HEPÁTICA INDUZIDA POR ISQUEMIA/REPERFUSÃO E MECANISMOS DE MODULAÇÃO PROPOSTOS.....	33
2.3	PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO DO FÍGADO	39
2.4	OS ÁCIDOS GRAXOS E SUAS VIAS METABÓLICAS.....	42
3	JUSTIFICATIVA	48
4	OBJETIVOS	49
4.1	OBJETIVO GERAL	49
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
5	MATERIAIS E MÉTODOS	50
5.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	50
5.2	COMITÊ DE ÉTICA.....	50
5.3	CUIDADOS COM OS ANIMAIS	50
5.4	GRUPOS E DESENHOS EXPERIMENTAIS.....	51
5.5	PROCEDIMENTOS DETALHADOS	52
5.6	COLETA DO MATERIAL	53
5.6.1	Coleta da amostra de tecido sanguíneo.....	53
5.6.2	Coleta da amostra de tecido hepático	54
5.7	PROCESSAMENTO DO MATERIAL	55
5.7.1	Processamento da amostra de tecido sanguíneo	55
5.7.2	Processamento da amostra de tecido hepático.....	55
5.7.2.1	<i>Processamento histológico</i>	<i>55</i>
5.7.2.2	<i>Processamento cromatográfico</i>	<i>56</i>
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	56
6	RESULTADOS.....	58
6.1	VALORES SÉRICOS DAS ENZIMAS HEPÁTICAS	58
6.2	HISTOLOGIA DAS AMOSTRAS HEPÁTICAS.....	60

6.3	ÁCIDOS GRAXOS	69
6.3.1	Ácidos Graxos Saturados	69
6.3.1.1	Ácido Palmítico.....	69
6.3.1.2	Ácido Esteárico	70
6.3.2	Ácidos Graxos Monoinsaturados	72
6.3.2.1	Ácido Palmitoleico	72
6.3.2.2	Ácido Oleico	73
6.3.3	Ácidos Graxos Poliinsaturados.....	74
6.3.3.1	Da Série Ômega-3.....	74
6.3.3.1.1	Ácido Alfa-Linolênico	74
6.3.3.1.2	Ácido Eicosapentaenóico	76
6.3.3.1.3	Ácido Docosahexaenóico	77
6.3.3.2	Da Série Ômega-6.....	78
6.3.3.2.1	Ácido Linoleico.....	78
6.3.3.2.2	Ácido Gama-Linolênico.....	79
6.3.3.2.3	Ácido Dihomo-Gama-Linolênico	81
6.3.3.2.4	Ácido Araquidônico.....	82
6.3.3.2.5	Ácido Docosapentaenóico n-6.....	83
6.3.4	Ácidos Graxos Totais	85
6.3.5	Síntese dos resultados dos Ácidos Graxos	86
6.3.5.1	D0 do experimento.....	86
6.3.5.2	D1 do experimento.....	88
6.4	ATIVIDADE DAS ENZIMAS DO METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS.	90
6.4.1	Δ -5 Dessaturase	90
6.4.2	Δ -6 Dessaturase	91
6.4.3	Estearoil Coenzima A Dessaturase 1 - SCD-1	92
7	DISCUSSÃO	95
8	CONCLUSÃO.....	105
	REFERÊNCIAS.....	106
	ANEXO A - PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO CEUA	107

1 INTRODUÇÃO

Desde os anos 1980, quando os índices de mortalidade nas hepatectomias reduziram dos sombrios 50% (nas hepatectomias de lobo direito) e 18% (nas ressecções do lobo esquerdo) relatados por Alexander Brunschwig (1), para cerca de 10% (2), percebeu-se uma ampliação na indicação do tratamento cirúrgico para as hepatopatias, bem como uma expansão da área hepática a ser ressecada. A consequência foi o surgimento de outro limitador: a insuficiência hepática pós-operatória (IHPO), com graves repercussões na taxa de mortalidade (3).

Autores da época relatavam o assustador cenário da falência progressiva e praticamente irreversível do fígado, tendo sido a IHPO rapidamente reconhecida como a principal causa isolada de morte após hepatectomias (4). Contudo, apenas em 2011 o Grupo Internacional de Estudo de Cirurgia do Fígado (ISGLS, *Internacional Study Group of Liver Surgery*) estabeleceu a definição desta nova condição, unificando o conceito de insuficiência hepática pós-operatória, como sendo um prejuízo na capacidade do fígado de manter suas funções de síntese, excreção e destoxificação, como veremos adiante (5).

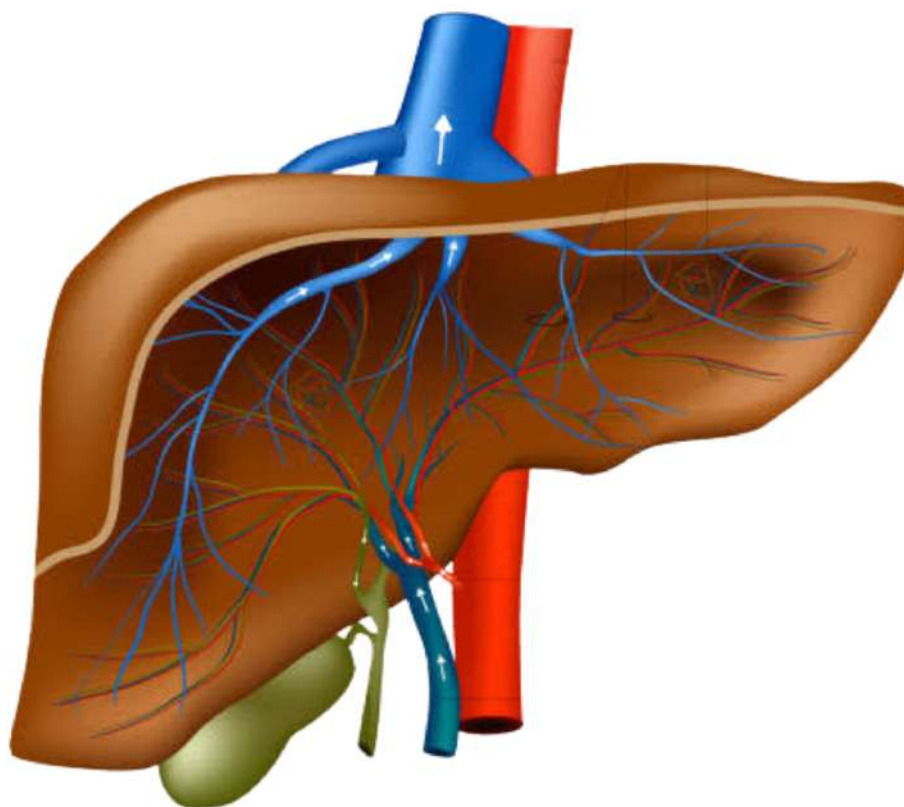
Esta padronização facilitou a busca pela etiologia da IHPO. Foram sugeridas como principais hipóteses os desequilíbrios do balanço energético em decorrência da disfunção mitocondrial induzida pela injúria isquêmica (4,6), levando a uma impossibilidade de atender às elevadas demandas orgânicas, próprias dos pós-operatórios, e à deflagração de um processo inflamatório muito intenso devido à importante liberação de citocinas e de espécies reativas de oxigênio (ERO), na fase de reperfusão do fígado (7).

Tornou-se inquestionável a associação da isquemia seguida de reperfusão ao risco de desenvolvimento de IHPO (8). Entretanto, uma vez que o fígado possui uma rica vascularização (Figura 1), é altamente recomendada a interrupção do fluxo sanguíneo, e sua posterior retomada, para a realização de hepatectomias.

Compreendendo que o processo de isquemia/reperfusão (I/R) era inevitável nas hepatectomias maiores, foi necessário elaborar outras estratégias para prevenir a ocorrência da IHPO. Neste contexto, conceitos de pré-condicionamento isquêmico, utilizados em cardiologia há mais de 40 anos (9) foram reavivados, inferindo que, de forma análoga ao coração, o fígado também poderia ser “treinado” com curtas sequências de isquemia, seguidas

de reperfusão, a fim de estar preparado para um grande intervalo isquêmico. Chegou-se à conclusão, através de resultados concisos de menor 1) elevação das enzimas hepáticas (10), 2) risco de formação de ascite e 3) necessidade de hemotransfusão (11) que, a utilização da isquemia e da reperfusão, de modo controlado e orquestrado, promovia uma melhor recuperação pós-operatória com menor chance de desenvolvimento da IHPO (12).

Figura 1 - Vascularização hepática



Fonte: Extraído de <https://www.istockphoto.com/br/fotos/blood-supply-liver>, acesso em 11 de março de 2024, às 13:35h

O entendimento do mecanismo, porém, não está elucidado. Diversas pesquisas foram realizadas com este fim, demonstrando-se a possível atuação de agentes como as interleucinas 1 e 6 (Il-1 e Il-6) (13), as enzimas adenosina (14), heme-oxigenase 1 (HO-1) (15) e superóxido dismutase (SOD) (16) e células do sistema imune como os macrófagos (17) e monócitos (18), mas com evidências controversas ou não reproduzíveis. No entanto, fica claro que a ação do pré-condicionamento isquêmico se dá pela alteração da fisiopatologia da injúria por isquemia/reperfusão, na medida em que a técnica não pressupõe o uso de nenhuma substância, mas tão somente a manipulação destas duas variáveis.

Observando mais atentamente estes mecanismos fisiopatológicos, percebemos a participação dos ácidos graxos tanto na fase de isquemia, quando deixam de sofrer a β -oxidação nas mitocôndrias, como na fase de reperfusão, quando são liberados dos fosfolipídios de membrana e se convertem em diversos bioativos, tornando-os potenciais elementos de associação com o risco de IHPO e de cooperação para os efeitos do pré-condicionamento isquêmico.

Todavia, após uma extensa revisão da literatura nas bases PubMed, Scopus e Google Scholar sobre artigos dos últimos 10 anos que correlacionassem os temas 1) ácidos graxos, 2) hepatectomia, 3) injúria por isquemia e reperfusão e 4) pré-condicionamento isquêmico, encontramos poucos dados sobre a concentração dos ácidos graxos no tecido hepático nas situações 1) de normalidade e 2) após um período de isquemia e não encontramos nenhuma informação sobre a concentração dos ácidos graxos 3) após a aplicação do pré-condicionamento isquêmico. Sobre ácidos graxos nas hepatectomias, contamos apenas com pesquisas que apontam que a suplementação com alguns ácidos pode diminuir a lesão por isquemia/reperfusão em ratos submetidos à ressecção de 70% do parênquima do fígado, que sugerem que os receptores de ácidos graxos podem ser novos alvos terapêuticos para o tratamento das hepatopatias e que propõem o ácido araquidônico como um marcador precoce de inflamação na doença gordurosa hepática não alcoólica (19-21).

Cientes de que a estimativa para 2030 é de que mais de um milhão de pessoas precisarão ser submetidas a cirurgias hepáticas (22), de que a IHPO continua sendo um fator limitante e de que permanece desconhecido o perfil dos ácidos graxos nas condições citadas acima, propusemos nesta pesquisa, um modelo experimental para a análise comparativa da concentração hepática de ácidos graxos entre ratos submetidos à hepatectomia com e sem pré-condicionamento isquêmico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A compreensão dos aspectos fundamentais da 1) insuficiência hepática pós operatória; da 2) injúria hepática induzida por isquemia/reperfusão e mecanismos de modulação propostos; do 3) pré-condicionamento isquêmico do fígado e dos 4) ácidos graxos e suas vias metabólicas sintetiza o conhecimento básico necessário para o desenvolvimento desta pesquisa.

2.1 INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA PÓS-OPERATÓRIA

O termo insuficiência hepática pós-operatória foi instituído apenas em 2011, pelo ISGLS, após observar que cada autor se referia à falência do fígado, como complicação de uma cirurgia de ressecção hepática, através de nomenclaturas e parâmetros diferentes (5).

Para tal, foram consideradas, entre tantas, duas publicações em especial. A primeira, feita por Balzan *et al.* em 2005, na qual os autores propuseram que, na análise de tecido sanguíneo no 5º dia de pós operatório, a associação da concentração de bilirrubina sérica (BS) acima de 50µmol/L ao valor do tempo de atividade de protrombina (PTTa, *activated Partial Thromboplastin Time*) inferior a 50%, seria um acurado preditor de morte pós-operatória por falência hepática (intra hospitalar ou nos primeiros sessenta dias após a cirurgia), com um risco relativo de 59% (23), e a segunda, elaborada por Mullen *et al.*, que afirmava que um pico de BS acima de 7mg/dL, em qualquer momento do pós-operatório, atestaria o diagnóstico de IHPO e seria capaz de predizer a morte por causa hepática, em noventa dias, com 93% de sensibilidade e 94% de especificidade (24).

Em consenso, os especialistas definiram então, a IHPO como sendo um prejuízo na capacidade do fígado de manter suas funções de síntese, excreção e destoxificação, caracterizadas por um aumento, em comparação aos valores de pré-operatório, dos níveis de bilirrubina e da razão normalizada internacional (RNI), cinco ou mais dias após uma cirurgia hepática. Considera-se, também, em IHPO, pacientes com hiperbilirrubinemia que tenham valores de RNI normais, às custas do uso de fatores de coagulação (5).

Além da terminologia e da definição da IHPO, na publicação é proposta, também, a diferenciação de grau de gravidade desta condição, com a mortalidade relativa a cada grau. O

grau A, aquele que não demanda mudança nas condutas de rotina do pós-operatório, o grau B, o que necessita de alterações na conduta, porém, de modo não invasivo e, o grau C, o que requer medidas invasivas para o manejo da complicação. A mortalidade relatada é de 0, 12 e 54%, respectivamente. Em conclusão, o grupo cita que a padronização facilita uma comparação acurada e, portanto, o desenvolvimento adequado de novas pesquisas (5).

Amplamente aceito, o artigo foi validado por dois estudos multicêntricos que, adotando os critérios do ISGLS, demonstraram uma epidemiologia da IHPO mais uniforme, com incidência variando entre 9 (25) e 20% (26), a depender da população e do nível de complexidade dos centros avaliados.

Ainda fruto desta padronização, os fatores de risco foram revistos e categorizados em: relacionados ao paciente, ao órgão e à cirurgia, conforme dispostos no Quadro 1.

Quadro 1 - Fatores de risco para IHPO.

Associação	Fatores de risco
Paciente	Gênero masculino Idade > 65 anos Obesidade (IMC >30) Diabetes mellitus
Órgão	Esteatose hepática Quimioterapia neoadjuvante Fibrose hepática Colestase Colangite Hipertensão portal
Cirurgia	Futuro remanescente hepático Perda sanguínea > 1200mL Transfusão sanguínea intraoperatória Tempo de isquemia Hepatectomias maiores (> 4 segmentos ou > 50% do parênquima hepático total) Tempo total de cirurgia > 240 minutos.

IMC - Índice de Massa Corpórea.

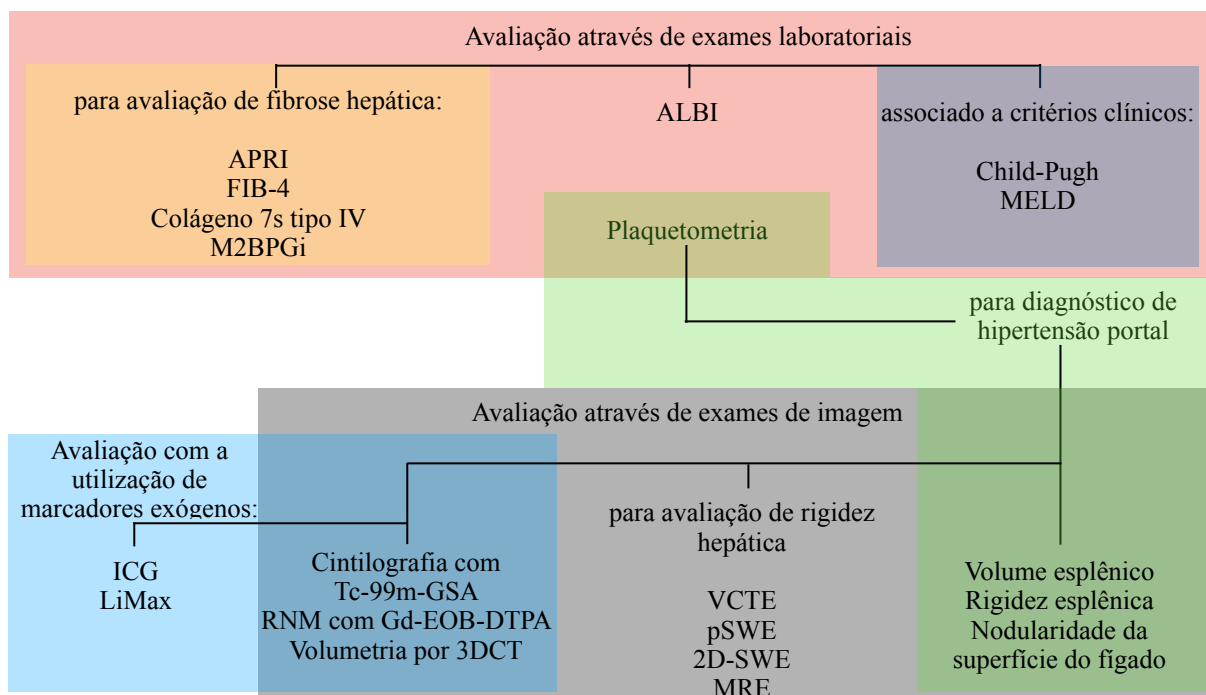
Fonte: Elaboração própria, a partir dos artigos 27-29.

Esta setorização aumentou a compreensão de que a predição da IHPO se fundamenta, principalmente, em uma minuciosa avaliação pré-operatória da capacidade funcional do fígado (30). As tradicionais classificações de Child-Pugh e do modelo para estágio final de doença hepática (MELD, *Model for End-Stage Liver Disease*), embora não tenham sido concebidas com este objetivo, foram testadas e validadas para este fim (31-34).

Todavia, uma enorme gama de métodos preditores surgiu e muitos revelaram, em estudos comparativos subsequentes, serem superiores às classificações supracitadas.

Organizamos os principais em um diagrama, expresso na Figura 2, distribuindo-os por categorias.

Figura 2 - Principais testes preditores da IHPO



APRI - *aspartate aminotransferase to platelet ratio index* (índice de proporção aspartato aminotransferase (AST) - plaqueta), FIB-4 - *fibrosis-4* (fibrose-4), M2BPGi - *mac-2 binding protein glycosylation isomer* (isômero de glicosilação da proteína de ligação Mac-2), ALBI - *albumin-bilirubin* (albumina - bilirrubina), MELD - *Model for End-Stage Liver Disease* (modelo para estágio final de doença hepática), ICG - *indocyanine green* (verde indocianina), LiMax - *liver maximum capacity* (capacidade máxima do fígado), Tc-99m-GSA - *Technetium-99m galactosyl serum albumin* (albumina sérica com tecnécio-99m-galactosil), RNM - *ressonância nuclear magnética*, Gd-EOB-DTPA - *gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic acid* (gadolinio-ácido etoxibenzil dietileno tri-aminopentaacético), 3DCT - *three-dimensional reconstructions of contrast-enhanced computed tomography images* (reconstruções tridimensionais de tomografia computadorizada contrastada), VCTE - *vibration-controlled transient elastography* (elastografia transitória controlada por vibração), pSWE - *point shear wave elastography* (elastografia por onda de cisalhamento pontual), 2D-SWE - *two-dimensional shear wave elastography* (elastografia por onda de cisalhamento bidimensional), MRE - *magnetic resonance elastography* (elastografia por ressonância nuclear magnética).

Fonte: Elaboração própria, a partir dos artigos 31-41.

Conhecendo os principais fatores de risco e preditores para a IHPO, diversas estratégias de prevenção foram elaboradas, das mais óbvias, como redução de peso para os obesos e controle do diabetes para os portadores desta condição, até as mais refinadas, como manobras para hipertrofia hepática, por meio da embolização da veia porta (PVE, *portal vein embolization*) (42) ou da hepatectomia em dois estágios associada à ligadura da veia porta (ALPPS, *associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy*) (43). Recomenda-se, também, atenção às perdas sanguíneas e ao tempo de isquemia intra-

operatório, a drenagem percutânea pré-operatória da via biliar para os casos de colestase (44) e evitar o prolongamento da quimioterapia neoadjuvante por mais de 6 sessões, uma vez que, as lesões hepáticas associadas à quimioterapia se tornam mais presentes a partir do sexto ciclo (29). Alguns trabalhos sugerem que o uso de glicocorticóides, antes ou durante o ato cirúrgico, reduziria a resposta inflamatória e, consequentemente, as chances de IHPO (27). Do mesmo modo, técnicas para modulação do fluxo de entrada de sangue no fígado, como a ligadura da artéria esplênica (ou a esplenectomia, propriamente dita) e o uso de análogos da somatostatina, propiciariam um cenário mais favorável para a recuperação hepática (27). Evidentemente, o reconhecimento e tratamento precoce das complicações pós-operatórias como hemorragia, fístula biliar e infecções também contribuem para reduzir a incidência e a severidade da IHPO (44).

A prevenção se faz ainda mais importante, quando entendemos que as opções de tratamento da IHPO são genéricas e geram resultados pouco relevantes. Correção de coagulopatias e de alterações hemodinâmicas, a fim de proteger o fígado de um ambiente isquêmico, suporte ventilatório e renal (recorrendo à diálise, se necessário), proteção neurológica através do controle glicêmico rigoroso e uso de lactulose no contexto de encefalopatia são algumas destas opções. Em última instância, o transplante hepático, com alto índice de complicações e eticamente controverso, seria, em teoria, o único tratamento definitivo e curativo para a IHPO irreversível (45).

Ante o exposto, fica patente porque o maior volume de publicações em IHPO, atualmente, é com foco na prevenção. E o domínio desta matéria, só é possível, a partir do detalhamento da fisiopatologia da IHPO. Entretanto, entender a sequência de eventos que leva um fígado recém operado a evoluir para falência não é simples.

Macroscopicamente, sabe-se que um órgão pequeno e, portanto, com células em menor quantidade, além de lesionadas pela agressão cirúrgica, não é capaz de corresponder à demanda metabólica que o organismo impõe ao fígado. A isso, Jean C. Emond deu o nome de *small-for-size*, que em tradução literal seria: “pequeno para o tamanho”, defendendo a ideia de que o peso hepático de um enxerto deve ser de, no mínimo 25% do peso de um fígado normal para o peso corporal de seu receptor, para que o órgão funcione adequadamente (46). Outras teorias foram agregadas à essa definição, a exemplo da IHPO em consequência à alta pressão de veia porta ($> 20\text{mmHg}$) ou ao alto fluxo de entrada de sangue no órgão ($>250\text{mL/min/}$

100g), denominada *small-for-flow* (pequeno para o fluxo) (47), e à obstrução vascular ao fluxo de saída, inferindo que o desenvolvimento da insuficiência hepática também se relacione à perfusão e ao efluxo sanguíneo do fígado (48).

Essas alterações macroscópicas, quando estudadas nos níveis celular e molecular, revelam que a morte do tecido hepático residual, que culmina na IHPO, ocorre, em última análise, por um ambiente tóxico que se instala pelo acúmulo de lipídios e espécies reativas de oxigênio (ERO) no intracelular, em decorrência da ativação pró-inflamatória das células de Kupffer e do aumento na expressão das moléculas de adesão celular, resultantes do processo de isquemia e reperfusão, inerentes aos procedimentos cirúrgicos do fígado.

Desta forma, a compreensão dos mecanismos de injúria hepática induzida por isquemia/reperfusão é fundamental para o desenvolvimento de estratégias que evitem ou diminuam a incidência de IHPO.

2.2 INJÚRIA HEPÁTICA INDUZIDA POR ISQUEMIA/REPERFUSÃO E MECANISMOS DE MODULAÇÃO PROPOSTOS

Certamente, a IHPO não se dá apenas através da injúria causada pelo processo de isquemia e reperfusão (I/R), mas, sem dúvidas, este é o mecanismo mais explorado nos estudos científicos.

A isquemia, definida pela interrupção do fluxo sanguíneo, e a reperfusão, quando há a retomada deste fluxo, são situações indispensáveis para a execução das hepatectomias maiores. Exatamente pela característica do fígado de ser um órgão muito vascularizado, torna-se inviável seccioná-lo sem antes pausar o suprimento vascular, sob o risco de uma hemorragia de difícil controle, ameaçadora da vida. Contudo, o período desta pausa também provoca efeitos indesejáveis à fração remanescente do órgão.

Durante a isquemia, a produção mitocondrial de adenosina trifosfato (ATP, *Adenosine TriPhosphate*) é suspensa, restando, somente, uma escassa produção anaeróbica citoplasmática. A degradação do ATP, no entanto, é aumentada, na tentativa de corresponder à demanda energética do trauma cirúrgico, uma vez que a energia é um dos produtos da hidrólise do ATP. À medida que são consumidos os estoques de ATP, sistemas que requerem energia ficam ineficientes. Proteínas de membrana responsáveis pela manutenção do

equilíbrio das concentrações iônicas (como, por exemplo, a Na⁺/K⁺ ATPase) não conseguem mais cumprir suas funções, permitindo desequilíbrio de sódio, cálcio e hidrogênio no espaço intracelular (49).

Juntamente com estes íons, há entrada de água na célula, configurando edema celular. Já o acúmulo dos ácidos resultantes da geração anaeróbica de energia, tornam o citoplasma ácido. Por fim, a concentração aumentada de cálcio, em virtude do mau funcionamento dos canais dependentes de ATP, promove a expressão de enzimas responsáveis pela fragmentação da cromatina (endonucleases), pela lise de proteínas (proteases) e pela liberação de ácidos graxos a partir dos fosfolipídios de membrana (fosfolipases), especialmente a fosfolipase A2 citosólica (cPLA2, *cytosolic phospholipase A2*) (49-51).

A baixa concentração de oxigênio também leva à ativação dos fatores induzidos pela hipóxia (HIF, *hypoxia-inducible factors*) (52), complexos proteicos presentes em todo o corpo, que induzem a expressão do cluster de diferenciação 36 (CD36, *cluster of differentiation*) o principal impulsionador da captação de ácidos graxos (53).

Na células endoteliais sinusoidais, em particular, a isquemia atua regulando negativamente a produção do vasodilatador óxido nítrico (NO, *nitric oxide*) (54) e positivamente a produção da endotelina-1 (ET1) e das moléculas de adesão intracelular e vascular (ICAM-1 - *intercellular adhesion molecule 1* - e VCAM-1 - *vascular cell adhesion molecule 1* - respectivamente), (55) potencializando a vasoconstrição, a atração, adesão e migração transendotelial de leucócitos, causando congestão e obstrução microvascular.

Estas alterações são percebidas pelo sistema imune inato, que possui como representante, entre outros, a célula de Kupffer (CKu) - nome que se dá ao macrófago residente nos sinusóides hepáticos. Assim como os outros leucócitos, ela possui, em sua superfície, receptores de reconhecimento de padrão (PRR, *pattern-recognition receptors*) (56), incluindo o receptor tipo toll 4 (TLR4, *toll-like receptor*), que, quando se ligam às moléculas liberadas pelas células danificadas, os chamados padrões moleculares associados a danos (DAMP, *damage-associated molecular patterns*), levam à ativação do fator nuclear kappa B (NF-κB, *nuclear factor-κB*) (57), um fator de transcrição necessário para a indução dos genes que codificam o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α, *tumor necrosis factor alfa*), a interleucina 1 beta (IL-1β), a interleucina 6 (IL-6) e a interleucina 12 (IL-12). Esta sequência

caracteriza uma célula de Kupffer em seu estado ativo conhecido como M1, ou pró-inflamatório (58).

Mais recentemente, alguns autores sugeriram que a oclusão do influxo hepático pode aumentar a taxa de translocação bacteriana para o fígado, a partir do sangue portal (59). As endotoxinas presentes na membrana externa dessas bactérias, os lipopolissacarídeos (LPS), atuam como padrões moleculares associados a patógenos (PAMP, *pathogen-associated molecular patterns*) (60) e também se ligam aos TLR4 intensificando a produção das citocinas mencionadas no parágrafo anterior.

PAMPs e DAMPs desencadeiam a ativação dos inflamassomas (61), complexos proteicos de alto peso molecular formados pela junção de um receptor semelhante a NOD (NLR, *NOD-like receptor*) a uma proteína adaptadora semelhante a uma partícula associada à apoptose, contendo um domínio de ativação e recrutamento de caspases (ASC, *apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domains*) e uma caspase ativa (62). Estes inflamassomas atuam na maturação e secreção de citocinas que, por sua vez, agem atraindo e ativando leucócitos, levando à produção de proteínas de fase aguda da inflamação, especialmente a proteína C reativa (PCR), e de mais outras citocinas pró-inflamatórias (63).

A manutenção da isquemia, fazendo perdurar estas alterações, conduz a célula à morte. Todavia, apesar da retomada do fluxo ser a única forma de cessar o estímulo lesional isquêmico, ela não é isenta de complicações (64).

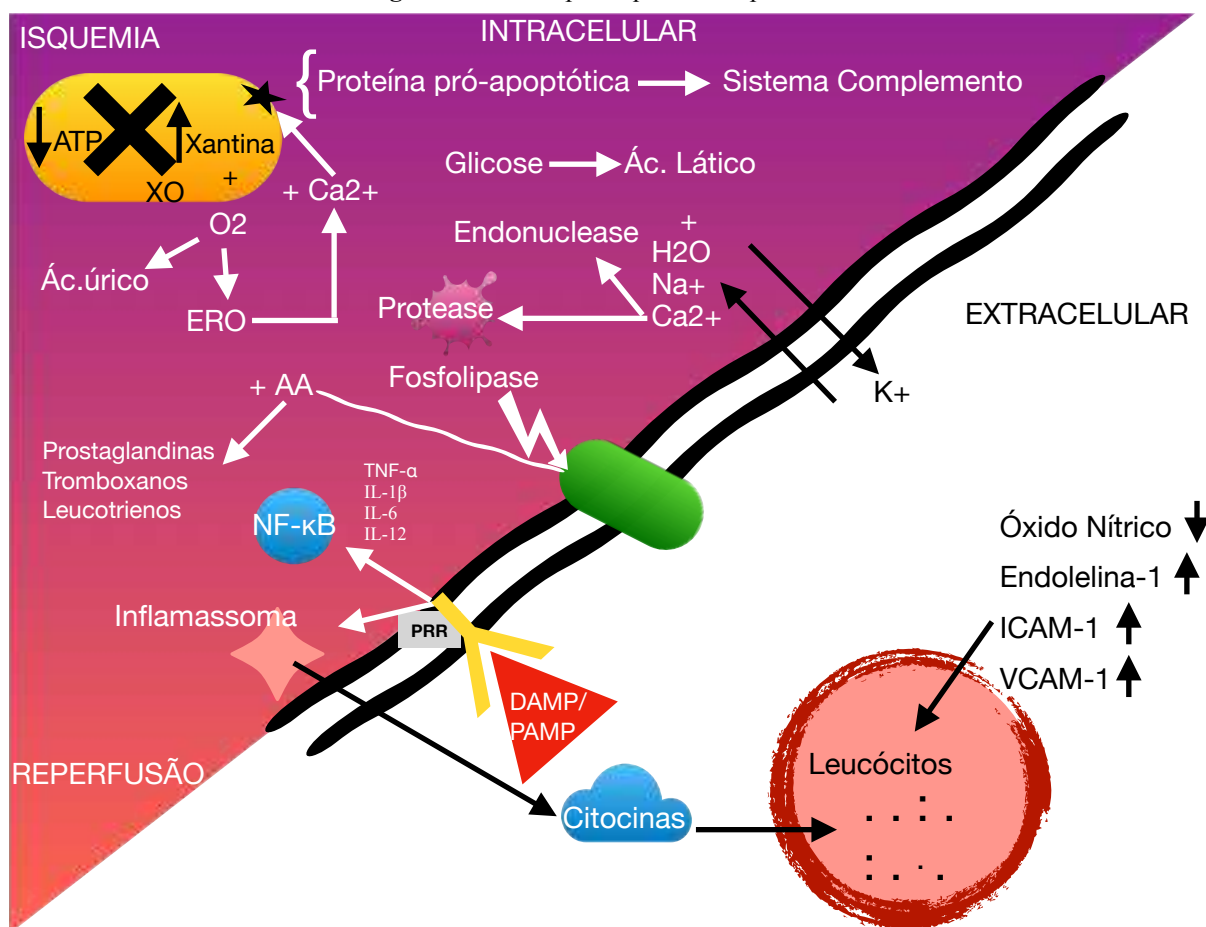
Na primeira fase da reperfusão, o oxigênio, proveniente do reestabelecimento do fluxo, se deparará com uma célula que, buscando sobreviver ao cenário isquêmico, encontra-se repleta de xantina, fruto da quebra do ATP. Por meio da enzima xantina-oxidase (XO), estes dois elementos reagem gerando ácido úrico e EROs (65).

As EROs são compostos químicos muito interativos, devido à alta instabilidade de seus elétrons desemparelhados. Estas interações levam a deformidades moleculares que, frequentemente, causam dano celular. Embora sejam produzidas, fisiologicamente, pelas mitocôndrias, no processo de respiração celular, quando em grande quantidade, podem se associar ao cálcio intracelular, levando a um aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial, com escape de proteínas pró-apoptóticas para o citosol e ativação do sistema complemento. Uma vez ativado, inicia-se a deposição de complexos de ataque à membrana

(MAC, *membrane attack complex*) e a liberação de anafilotoxinas e de ligantes ativadores de leucócitos (66), que amplificam a injúria ao promover o influxo e a ativação de mais células inflamatórias. Embora o objetivo da resposta imune seja facilitar a regeneração, o excesso de citocinas decorrente da injúria hepática induzida por I/R, pode produzir uma síndrome da resposta inflamatória sistêmica e, progressivamente, resultar em IHPO e falência de múltiplos órgãos.

Outra consequência da presença expressiva das EROs é o estresse oxidativo, quando a capacidade antioxidante do organismo é esgotada. Este contribui para a inibição da proteína quinase ativada pelo monofosfato de adenosina (AMPK, *adenosine monophosphate-activated protein kinase*), o sensor do estado de energia da célula (67). Esta inibição causa regulação positiva da lipogênese e negativa dos fatores de oxidação dos ácidos graxos. Estes eventos, em conjunto, favorecem o acúmulo de ácidos graxos nas células do fígado e a reação deles com as EROs, a chamada peroxidação lipídica dos lipídios de membrana - em especial os ácidos graxos poliinsaturados (68) - provocando o rompimento da estrutura das membranas e alteração de permeabilidade das mesmas. Ademais, estes lipídios peroxidados são substâncias altamente citotóxicas que disparam uma cascata de reações com liberação de uma gama de substâncias pró-inflamatórias, como prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) e leucotrienos (LT) (69,70) que causam o estresse do retículo endoplasmático (RE), a disfunção mitocondrial e, em última instância, a morte celular (53).

As principais alterações da lesão por I/R encontram-se esquematizadas a seguir, na Figura 3.

Figura 3 - Lesões por isquemia e reperfusão

ATP - adenosina tri-fosfato, XO - xantina oxidase, ERO - espécie reativa de oxigênio, AA - ácido araquidônico, NF-κB - fator nuclear kappa B, TNF-α - fator de necrose tumoral *alfa*, IL-1β interleucina 1 *beta*, IL-6 - interleucina 6, IL-12 - interleucina 12, PRR - receptores de reconhecimento de padrão, DAMP - padrões moleculares associados a danos, PAMP - padrões moleculares associados a patógenos, ICAM-1 - moléculas de adesão intracelular 1, VCAM-1 - moléculas de adesão vascular 1, H2O - Água, Na⁺ - Sódio, Ca²⁺ - Cálcio, K⁺ - Potássio.

Fonte: Elaboração própria.

Para evitar este desfecho, pesquisadores buscaram entender quais os mecanismos adaptativos utilizados pelo fígado, pois desta forma poderiam mimetizá-los ou otimizá-los, auxiliando o órgão. Um dos mais investigados é o das vesículas extracelulares (VE). Fruto da expressão da geranyl-geranyl di-fosfato sintase (GGPPS, *geranylgeranyl diphosphate synthase*), induzida pelo acúmulo de gotículas de triglicerídeos no citoplasma, as VE compreendem três diferentes subclasses, com base em sua origem e tamanho, podendo ser classificadas em: exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos. As duas primeiras são formadas e enviadas não apenas como forma de diminuir a carga lipídica hepatocitária, mas atuando também como uma via de sinalização para a regulação da adipogênese (71). Já os corpos apoptóticos (CA) exibem ligantes específicos que promovem a quimiotaxia dos

macrófagos. A fagocitose destes CA pelos macrófagos, processo chamado de eferocitose, desloca os macrófagos para o fenótipo M2, o que reduz os níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6) e aumenta a liberação de moléculas pró-resolução e dos mediadores anti-inflamatórios IL-10 e fator transformador de crescimento beta (TGF- β , *transforming growth factor beta*) (72). Mas acima de tudo, a eferocitose contribui com a homeostase lipídica (o mais grave problema da injúria hepática por isquemia e reperfusão), pois os ácidos graxos contidos nestes CA ativam de modo direto os receptores ativados por proliferador de peroxissoma Δ e γ (PPAR- Δ /PPAR- γ , *peroxisome proliferator-activated receptors Δ/γ*), promovendo a oxidação destes próprios ácidos graxos nas mitocôndrias dos esferócitos e, de modo indireto, os receptores X do fígado (LXR, *liver X receptors*) e as proteínas de ligação a elementos reguladores de esterol (SREBP, *sterol regulatory element-binding proteins*), reduzindo a carga lipídica, a lipotoxicidade e a morte celular. (73)

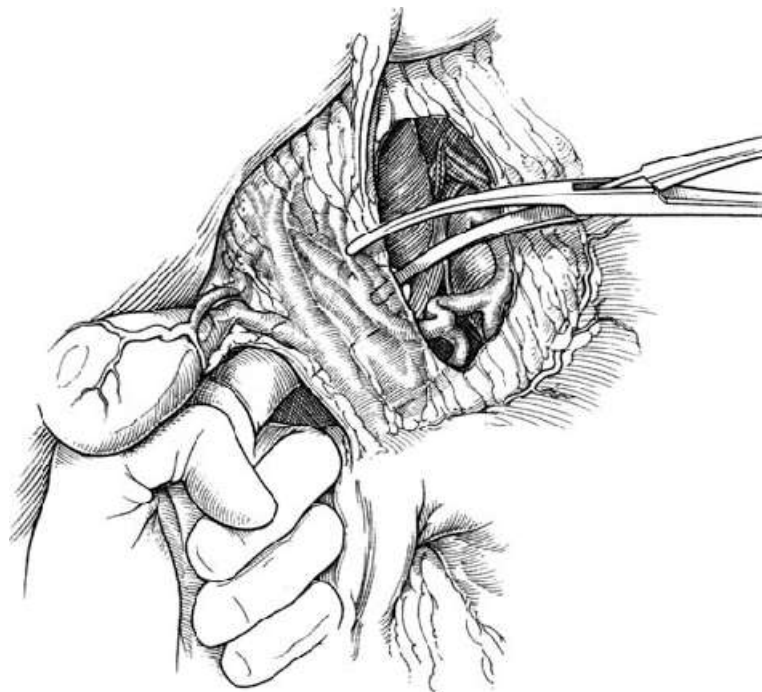
Compreendendo estes mecanismos, diversos autores propuseram formas de modular e impedir este acúmulo lipídico. Trabalhos visando a ativação dos PPAR, dos LXR e até mesmo da eferocitose, obtiveram boas respostas para o tratamento da esteatohepatite não alcoólica (74), da degeneração macular senil (75) e da injúria isquêmica cerebral (76), respectivamente. De igual modo, Wang *et al.* (77) que elaboraram um desenho experimental, no qual ratos pré-tratados com um ativador da β -oxidação de ácidos graxos foram submetidos a isquemia de 70% do parênquima hepático e comparados a ratos que sofreram a mesma intervenção, sem o pré-tratamento. Eles demonstraram, através dos valores das enzimas hepáticas, do escore de lesão histopatológica hepática, da contagem de apoptose de hepatócitos, da aferição do estresse oxidativo e da lesão mitocondrial, que há uma significativa redução da lesão hepática induzida por I/R nos ratos pré-tratados, presumindo que o acúmulo de ácidos graxos, que causa prejuízos ao órgão, ocorre pela não oxidação deles. Liss e colaboradores (78), buscaram entender melhor o perfil dos lipídios que se acumulam. Para isto, randomizaram modelos murinos em 2 grupos e os alimentaram, um com dieta padrão e outro com dieta hipercalórica. Em seguida, induziram 70% do fígado à isquemia, por clampeamento do suprimento vascular, e pesquisaram o perfil lipídico encontrado. Analisando moléculas lipídicas complexas, chegaram à conclusão de que houve um aumento lipídico global, que os perfis lipídicos encontrados em fígados esteatóticos e não-esteatóticos diferem entre si e que estas diferenças podem ser justificadas pela disponibilidade ou preferência por determinado ácido graxo.

Outros trabalhos desenvolvidos na tentativa de propor estratégias que pudessem atenuar a injúria por I/R incluem: os ensaios clínicos com a) células-tronco (79), b) o uso da ciclosporina e da azatioprina, c) a infusão de soluções salinas, combinadas ou não, à pentoxifilina (80,81) e d) o pré-condicionamento do fígado. Diferentes métodos de pré-condicionamento foram testados através da administração de lipopolissacarídeos, de ácido graxos poliinsaturados, do uso do sevoflurano inalatório (82,83) e através de uma isquemia transitória controlada, conhecida como pré-condicionamento isquêmico (84), foco do presente estudo.

2.3 PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO DO FÍGADO

Descrito primeiramente por Murry *et al.* (85) em 1986, em modelos caninos de pré-condicionamento isquêmico (PCI) do miocárdio, a técnica consiste na realização de um breve momento de isquemia, seguido de um curto tempo de reperfusão, antes do período prolongado de isquemia, necessário para o ato cirúrgico principal. Embora não esclareçam a razão pela qual o pré-condicionamento confere um efeito protetor às células do miocárdio, os autores sugerem, a depuração dos catabólitos da isquemia e a restauração da capacidade dos miócitos em produzir ATP em larga escala, como boas hipóteses.

Em 1993, Lloris-Carsí *et al.* (86) transportaram para as cirurgias hepáticas o conceito do pré-condicionamento isquêmico, de que submeter o órgão a um ambiente isquêmico, transitório e controlado, poderia treiná-lo para adquirir a habilidade de perpassar por uma injúria isquêmica sustentada, com menor sofrimento. Este ambiente é atingido através do clampeamento da tríade portal, conhecido como manobra de Pringle (Figura 4), um procedimento criado em 1908 (87), no contexto do trauma hepático, por J.H.Pringle, que reduz, substancialmente, a perfusão do fígado.

Figura 4 - Manobra de Pringle

Fonte: Cothren e Moore, 2008

O PCI foi utilizado em humanos, pela primeira vez, em 2000, por Clavien *et al.* (10), em um estudo não randomizado, cujo resultado foi uma diminuição das aminotransferases séricas - alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase (ALT, *alanine aminotransferase* e AST, *aspartate aminotransferase*) - e da injúria endotelial no grupo pré-condicionado, embora não tenha havido nenhuma diferença nas taxas de mortalidade e de permanência hospitalar.

O primeiro efeito clinicamente relevante do pré-condicionamento isquêmico do fígado foi divulgado em uma meta-análise publicada em 2008 pela Cochrane (88), demonstrando que a proporção de pacientes que necessitaram de transfusão sanguínea foi, significativamente, menor no grupo do PCI. Contudo, os demais resultados das taxas de mortalidade e de permanência hospitalar foram semelhantes aos dados até então disponíveis na literatura.

Diversos estudos foram desenvolvidos na tentativa de comprovar como o pré-condicionamento promove a proteção aos hepatócitos. Peralta e colaboradores (89) identificaram que 10 a 15 minutos de isquemia contínua é o período de tempo ideal para promover a liberação de adenosina, produto intermediário da quebra do ATP, capaz de atenuar a lesão por I/R nos hepatócitos, por seu efeito antiapoptótico e vasodilatador. Além disto, ao ligar-se aos seus receptores, especialmente os receptores A1 e A2, a adenosina promove a

regulação positiva da sintase endotelial de óxido nítrico (eNOS, *endothelial nitric oxide syntase*) (90) e a inibição da ativação dos linfócitos T matadores naturais (LT-NK, *natural killer T lymphocytes*), culminando em menor liberação de TNF- α e de Il-6 (91). Todavia, estímulos farmacológicos de agonismo a receptores da adenosina não produzem o mesmo efeito, sugerindo que um dos mecanismos de proteção do PCI esteja relacionado ao aumento da liberação de adenosina, e não à regulação positiva de um receptor individual (92).

Outro elemento que mostrou diferença de produção, quando comparados modelos submetidos com aqueles não submetidos ao PCI, foi a proteína quinase C (PKC, *protein kinase C*), uma família de enzimas transdutora de sinal, identificada como via de sinalização dos receptores de adenosina (14). No entanto, a diferença observada no grupo pré-condicionado foi um aumento na atividade destas enzimas (93), um contra-senso, uma vez que a redução da lesão hepática por I/R, foi comprovada em muitos trabalhos, após a inibição da PKC (14, 94).

Alguns estudos buscaram comprovar a relação do PCI com a HO-1, uma enzima catalisadora da degradação do heme, cuja reação forma substâncias antioxidantes (15), mas seus resultados foram controversos. Embora atestem que a regulação positiva desta proteína aumente a incidência de autofagia (95), reduzindo a liberação do DAMP conhecido como proteína de alta mobilidade do grupo Box 1 (HMGB-1, *high mobility group box 1*) (96), esta regulação não foi obtida com o PCI (97), não podendo ser, portanto, tachada como um dos mecanismos protetores do pré-condicionamento.

Pesquisas que se concentraram na investigação das citocinas, demonstraram que, após o pico de produção de Il-6 e TNF- α na primeira hora após a lesão por I/R, ocorre uma queda mais acentuada destas dosagens nos ratos que sofreram pré-condicionamento (13). Contudo, trabalhos visando examinar a mortalidade nas hepatectomias em ratos com deficiência destas substâncias, evidenciaram um maior percentual de desfecho negativo no grupo dos ratos não produtores de Il-6 e TNF- α , sugerindo que estes dois elementos podem ser essenciais para o pleiotropismo das células do sistema imunológico envolvidas no processo de regeneração hepática (98). Ainda sobre citocinas, estudos mais recentes concluíram que após 3 horas da reperusão hepática, os níveis séricos de Il-10, uma substância sabidamente anti-inflamatória, são mais elevados nos receptores de enxertos previamente submetidos ao PCI (13). No

entanto, esse resultado não se repetiu nos modelos de hepatectomias não relacionadas a transplante (99).

Já Tang *et al.* (16), descobriram que o PCI aumentou, significativamente, a enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) e diminuiu os fatores inflamatórios TNF- α e IL-1 β , confirmando que o pré-condicionamento isquêmico poderia proteger a função hepática através da prevenção a progressão do estresse oxidativo e respostas inflamatórias na lesão de isquemia-reperfusão.

Ainda que fique clara a interferência do PCI na síntese de diversos componentes, sua aplicabilidade continua sendo controversa, posto que seu benefício clínico não é evidente. Em uma recente metanálise (11), foram relacionados ao PCI, com significância estatística, a redução na perda sanguínea no intra-operatório, na necessidade de transfusão de hemoderivados e no risco de formação de ascite no pós-operatório. Os autores concluem que, a despeito de não encontrarem evidências suficientes para recomendar a utilização desta técnica como prática rotineira, o PCI é aplicável, uma vez que se trata de uma abordagem de fácil execução, que não traz danos aos pacientes, é bem tolerada, não altera o tempo operatório e não necessita de recursos financeiros. Os autores ainda comentam que é importante cogitar o emprego do PCI considerando-se os riscos relacionados à hemotransfusão e à ascite.

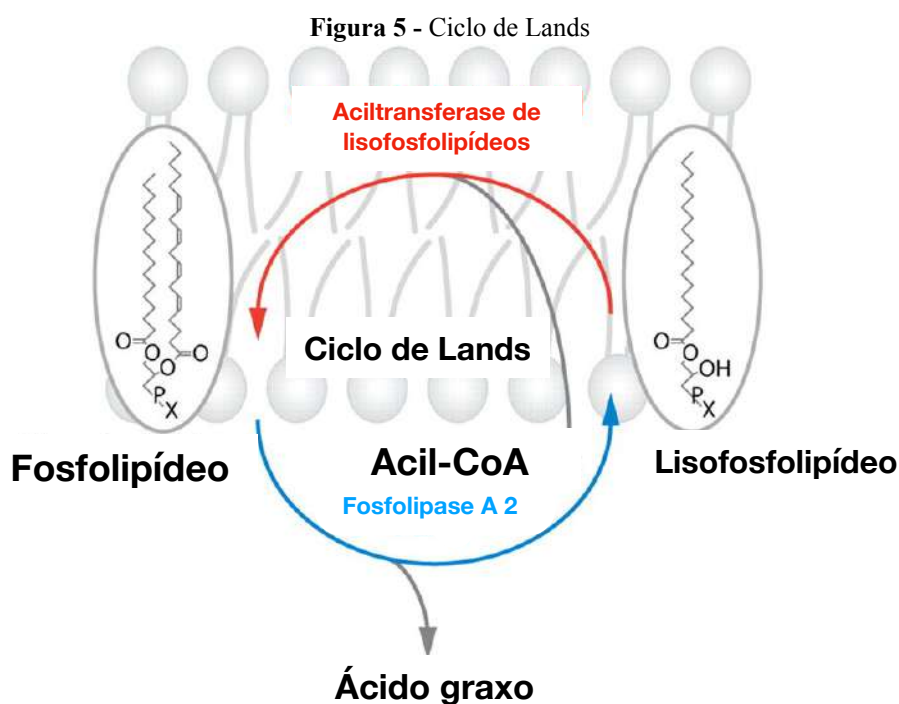
Tais colocações estimulam o aprofundamento do tema, provocando a discussão de novas ideias que visem a contribuir, especialmente, no aspecto translacional. Neste sentido, o emergente número de trabalhos correlacionando os ácidos graxos a diversas doenças, suscitaram o interesse em estudar o comportamento destes nas hepatectomias e compará-lo àquelas onde se utiliza o pré-condicionamento isquêmico.

2.4 OS ÁCIDOS GRAXOS E SUAS VIAS METABÓLICAS

Ácidos graxos são substâncias hidrocarbonadas produzidas pelo organismo e/ou obtidas através da alimentação (100). Sua ingestão pode se dar em sua forma livre - ácido graxo livre (AGL) ou, mais comumente, como parte estrutural de compostos lipídicos. Independente de qual seja a forma consumo, é através da absorção pelos enterócitos que estes

ácidos graxos alcançam as corrente sanguíneas e linfáticas e, posteriormente, o fígado - o principal órgão de síntese e circulação de ácidos graxos no corpo humano (101).

Ali, de modo geral, são usados para geração de energia e para a formação dos triglicerídeos. Estes podem ser armazenados no próprio órgão ou exportados para estocagem no tecido adiposo ou para utilização como fonte de energia em outros tecidos, especialmente os musculares. Além disto, servem de substrato para a síntese *de novo* de outros ácidos graxos, a geração dos eicosanóides (compostos bioativos responsáveis pela regulação de respostas inflamatórias) e a formação dos fosfolipídios, esfingolipídios e glicolipídios, que remodelam as membranas celulares, conforme descrito na sequência denominada Ciclo de Lands (102,103) - Figura 5.



A fosfolipase A2 hidrolisa a cadeia acil de um fosfolipídeo para gerar um ácido graxo livre e um produto lisofosfolipídeo. A reacilação do lisofosfolipídeo de volta a um fosfolipídeo (frequentemente com uma cadeia acil diferente) é catalisada por uma aciltransferase de ácido lisofosfatídico e envolve o consumo de um acil-CoA.
Fonte: Adaptado de Bankaitis (2009).

No entanto, quando analisados de maneira mais individualizada vemos que, a classificação em saturados, mono ou poliinsaturados (na dependência da presença e quantidade de duplas ligações de carbono em suas moléculas) determina diferenças em suas vias metabólicas e funções.

Por exemplo, os ácidos graxos saturados (AGS) são frequentemente correlacionados à obesidade, esteatose hepática e diabetes tipo 2, em humanos (104). Adicionalmente, no campo dos estudos experimentais, diversas pesquisas com modelos murinos comprovaram a associação de dieta enriquecida com os ácidos graxos saturados ao aumento de citocinas inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , e diminuição de citocinas antiinflamatórias, como a IL-10 (105, 106). Os maiores representantes destes ácidos, os ácidos Palmítico e Estéárico, são, respectivamente, precursores dos ácidos Palmitoleico e Oleico, moléculas classificadas como ácidos graxos monoinsaturados (AGM). Curiosamente, estes, ao contrário dos primeiros, promovem melhores perfis glicêmicos e lipídicos (107), reduzem o risco de doenças cardiovasculares e ainda atuam como pré-bióticos levando a uma alteração benéfica do microbiota intestinal (108). As funções tão antagônicas destas duas classes de ácidos chama atenção para a enzima estearoil coenzima A dessaturase-1 (SCD-1, *Stearoyl-CoA Desaturase 1*), responsável por esta reação de conversão, que será discutida posteriormente.

A classe dos ácidos graxos poliinsaturados (AGP) se subdivide em séries ômega, de acordo com a posição, na molécula, do carbono que exibe a primeira dupla ligação. As mais prevalentes são as séries ômega-3 e -6. Cada uma delas compreende um grupo de ácidos que se comportam ora como precursor, ora como produto formando uma via de reações em cadeia.

Os principais componentes da série ômega-3 são os ácidos Alfa-Linolênico (ALA, *Alfa-Linolenic Acid*), Eicosapentaenóico (EPA, *Eicosapentaenoic Acid*) e Docosahexaenóico (DHA, *Docosaexahenoic Acid*). O primeiro exerce uma ação antiadipogênica através do agonismo da AMPK, da diminuição da expressão gênica do SREBP e do aumento dos receptores PPAR- α , o qual estimula a β -oxidação dos ácidos graxos por promover a maior produção da carnitina palmitoiltransferase I (CPT-I, *carnitine palmitoyltransferase I*) e da acil-Coenzima A oxidase (ACOX, *acyl coenzyme A oxidase*). Os demais promovem diversos efeitos, como a prevenção dos eventos cardiovasculares e declínios cognitivos (109, 110), por meio dos mediadores lipídicos especializados em pró-resolução (SPM, *specialized pro-resolving lipid mediators*) que deles derivam, conforme explicitado mais adiante. A sequência normal desta via tem início com o ALA, que ao sofrer uma dessaturação pela enzima Δ -6 dessaturase, uma elongação e uma dessaturação pela enzima Δ -5 dessaturase, dá origem ao EPA. Este vai ser convertido, após outras duas elongações, mais uma dessaturação (também pela enzima Δ -6 dessaturase) e uma β -oxidação, em DHA (111). O DHA é um produto final e,

portanto, encerra a via metabólica da série ômega-3, mas pode ser captado pelas vias da ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase (LOX) e convertido em Maresinas, Resolvinas da série D e Protectinas. Estes três SPM são reconhecidos por seus efeitos antiinflamatórios associados à heme-oxigenase 1 (112), suas ações de regeneração tecidual (113), de favorecimento da eferocitose (114) e de redução da apoptose no fígado (115). O EPA, embora não seja um produto final, pode ser desviado de sua via original e, à semelhança do DHA, sofrer outros tipos de degradação. Sua conversão pelas vias COX e LOX gera alguns compostos de baixo poder inflamatório como a prostaglandina E3 (PGE3, *Prostaglandin E3*), o leucotrieno da série 5 (LTB5, *Leukotriene 5*) e o tromboxano A3 (TXA3, *Thromboxane A3*). Pela via do citocromo p450 (CYP, *Cytochrome P450*), o EPA é metabolizado em Resolvinas da série E, SPM capazes de antagonizar receptores de leucotrienos (116), modular os sinais de apoptose e a transmigração e fagocitose de células da imunidade inata (117), além de mitigar a disfunção mitocondrial em modelos de inflamação de cultura celular (118) e prevenir a fibrose em experimentos de injúria cardíaca por isquemia e reperfusão em murinos (119).

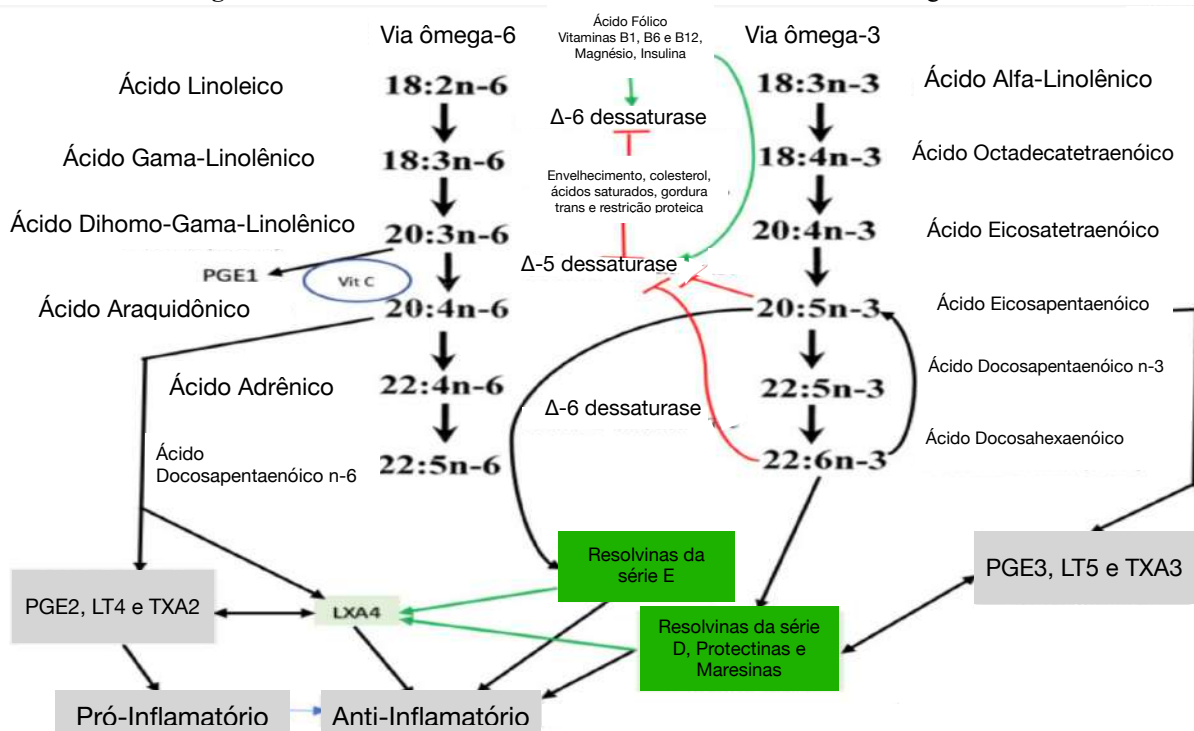
A série ômega-6 é composta pelos ácidos Linoleico (LA, *Linoleic Acid*), Gama-Linolênico (GLA, *Gama-Linolenic Acid*), Di-Homo-Gama-Linoleico (DGLA, *Dihomo-Gama-Linolenic Acid*), Araquidônico (AA, *Arachidonic Acid*) e Docosapentaenóico n-6 (DPA n-6, *Docosapentaenoic Acid n-6*) e sua via de metabolização tem início com a conversão do LA, através de uma dessaturação promovida pela enzima Δ -6 dessaturase, em GLA. Este sofre uma elongação, originando o DGLA que, em seguida é dessaturado pela enzima Δ -5 dessaturase, gerando o AA. Sequencialmente, ocorrem uma elongação e outra dessaturação, novamente pela enzima Δ -6 dessaturase, e uma β -oxidação que produz o DPA n-6. O Ácido Linoleico é o ácido graxo poliinsaturado mais consumido no ocidente (120). Outrora fonte de, aproximadamente, 2% das calorias ingeridas, diariamente, pelo ser humano, hoje, após recomendações de substituição da gordura saturada pela poliinsaturada, este ácido graxo essencial provê cerca de 7% da energia de origem alimentar (121). Os estudos que incentivaram esta recomendação associam a alta concentração dietética e sérica deste ácido a uma menor mortalidade por doença cardiovascular (122). De igual modo, os ácidos Gama-Linolênico e DGLA são reconhecidos por seus efeitos benéficos. O primeiro, especialmente, na profilaxia da dermatite atópica (123) e na atenuação da neuropatia diabética (124) e da sintomatologia da artrite reumatoide (125) e o segundo pelas ações anti-inflamatórias obtidas

por meio dos seus metabólitos, a prostaglandina de série 1 (PGE1, *Prostaglandin E1*) e o Ácido 15-Hidroxieicosatrienóico (15-HETrE, *15-Hydroxyeicosatrienoic Acid*) e através de seu efeito supressor do metabolismo dos leucotrienos (126). Já o AA é o precursor da Prostaglandina de série 2 (PGE2, *Prostaglandin E2*), do Tromboxano A2 (TXA2, *Thromboxane A2*) e dos Leucotrienos e Lipoxinas da série 4 (LT4, *Leukotriene 4* ; LXA4, *Lipoxin A4*). As três primeiras, com grande atividade inflamatória, levam à ativação M1 dos macrófagos e estimulam a secreção de citocinas pró-inflamação e a última, em contrapartida, aparentando ser uma molécula com capacidade antiinflamatória mais potente que a das Resolvinas, Protectinas e Maresinas derivadas do EPA e DHA (127). Do pouco que se sabe sobre o DPA n-6 destacamos que este se encontra, particularmente, concentrado no tecido neural, onde desempenha papéis estruturais e de sinalização inflamatória e sinápticas (128).

Por fim, entendendo que, em suas respectivas vias, um ácido é precursor do outro e, portanto, falhas enzimáticas podem determinar acúmulo de ácidos que servem de substrato para produtos inflamatórios em detrimento de ácidos dos quais derivam substâncias antiinflamatórias, podemos afirmar que, tão importante quanto a concentração dos ácidos graxos é a mensuração da atividade das enzimas das vias metabólicas destes. Esta pode ser estimada a partir das relações produto/precursor, conforme validado em modelos prévios (129) e trazem dados relevantes. Por exemplo, a SCD-1, é uma enzima que modula uma grande variedade de vias metabólicas. Encontrada no retículo endoplasmático, ela desempenha um papel crucial na síntese *de novo* de ácidos graxos e sua inibição relaciona-se ao aumento da beta-oxidação dos ácidos graxos e à queda na produção de citocinas pró-inflamatórias fazendo dela um atraente alvo terapêutico (130). As enzimas Δ -5 e -6 dessaturase, codificadas, respectivamente, pelos genes Dessaturase de Ácidos Graxos 1 (FADS 1, *Fatty Acid Desaturase 1*) e Dessaturase de Ácidos Graxos 2 (FADS 2, *Fatty Acid Desaturase 2*), são, assim como a SCD-1, enzimas limitadoras de taxa de conversão e a inibição da atividade de ambas, relaciona-se a várias doenças que vão de distúrbios metabólicos a doenças neuropsiquiátricas, de diabetes tipo 2 a doenças cardiovasculares, de inflamação a tumorigênese (131).

Um resumo dos ácidos graxos das séries ômega-3 e -6 e as principais enzimas destas vias é apresentado na Figura 6, abaixo:

Figura 6 - Vias metabólicas dos Ácidos Graxos Poliinsaturados Ômega-3 e -6



FADS1: enzima dessaturase 1 dos ácidos graxos, FADS2: enzima dessaturase 2 dos ácidos graxos, LT4: leucotrieno da série 4, LT5: leucotrieno da série 4, PGE1: prostaglandina da série 1, PGE2: prostaglandina da série 2, PGE3: prostaglandina da série 3, TXA2: tromboxano da série 2, TXA3: tromboxano da série 2.

Fonte: Adaptado de Undurti N Das (132).

Estudos comparativos do comportamento dos ácidos graxos e das enzimas de suas vias metabólicas no contexto da injúria por isquemia e reperfusão e do pré-condicionamento isquêmico não foram encontrados em nossas buscas na literatura. Ao identificarmos a ausência de pesquisas que explorem detalhadamente este tema, percebemos que essa área carece de aprofundamento. Neste sentido, o presente trabalho busca contribuir e oferecer novas perspectivas para futuras investigações.

3 JUSTIFICATIVA

O estudo da relação entre o pré-condicionamento isquêmico e as possíveis alterações da concentração de ácidos graxos no parênquima hepático tem potencial para aumentar a compreensão dos mecanismos através dos quais o PCI parece conferir uma proteção tanto ao remanescente hepático, como ao organismo de modo geral. O desenvolvimento de estratégias que reduzam as complicações isquêmicas das hepatectomias através de intervenções que modulem favoravelmente fatores tóxicos produzidos durante a isquemia, encontra base no aprofundamento da compreensão das alterações metabólicas dos ácidos graxos hepáticos durante uma hepatectomia. Soma-se a isso, o fato de que a análise bibliográfica recente evidencia uma lacuna de conhecimento quanto ao padrão de concentração hepática normal dos ácidos graxos e também quanto a suas variações de concentração durante e após uma hepatectomia. Adicionalmente, não encontramos na literatura estudos sobre a influência do pré-condicionamento isquêmico na concentração de ácidos graxos no fígado. Dessa forma, se justifica a realização de trabalho experimental sobre a influência do pré-condicionamento isquêmico do fígado na concentração hepática dos ácidos graxos.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento dos ácidos graxos mais prevalentes nas membranas dos hepatócitos de ratos, submetidos a hepatectomia de 70%, e analisar a influência do pré-condicionamento isquêmico neste comportamento.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em ratos submetidos à hepatectomia de 70% do parênquima, com e sem pré-condicionamento isquêmico hepático, estudar a correlação entre: 1) a concentração hepática dos ácidos graxos prevalentes nas membranas celulares dos hepatócitos, 2) a atividade das enzimas das vias metabólicas destes ácidos graxos, 3) as alterações histológicas hepáticas e 4) os valores séricos das enzimas hepáticas nas análises bioquímicas.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

As cirurgias deste experimento foram realizadas no Centro de Cirurgia Experimental (CCE) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Os exames bioquímicos foram processados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF).

As análises histológicas foram efetuadas no Laboratório de Proliferação e Diferenciação Celular (LPDC) do Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ.

As avaliações cromatográficas foram executadas no Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) do Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ.

5.2 COMITÊ DE ÉTICA

O projeto de protocolo: 028/21 foi submetido ao comitê de ética e obedeceu a todos os critérios estipulados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).

5.3 CUIDADOS COM OS ANIMAIS

Os ratos foram distribuídos em 3 grupos (com um máximo de quatro animais por gaiola no pré-operatório e dois no pós-operatório) e mantidos em gaiolas de polipropileno com grade de aço inox, forradas com maravalha de *Pinus*, no biotério do Centro de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

Durante todo o período do experimento, os animais ficaram sob cuidados dos veterinários responsáveis, em temperatura controlada, com livre acesso a água filtrada e ração e tiveram respeitados seus ciclos circadianos (fase clara/fase escura).

5.4 GRUPOS E DESENHOS EXPERIMENTAIS

Vinte e quatro ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com peso variando entre 230 e 330 gramas foram randomizados em 3 grupos, conforme descrito a seguir e ilustrado no Quadro 2, abaixo:

Quadro 2 - Grupos experimentais

Grupo	N	Dia	Procedimentos
Grupo 1 - Sham	4	D0	Manipulação hepática → Remoção completa do fígado → Eutanásia
	4	D0	Coleta sanguínea → Manipulação hepática
		D1	Coleta sanguínea → Remoção completa do fígado → Eutanásia
Grupo 2 - Sem Pré-Condicionamento	8	D0	Coleta sanguínea → Hepatectomia convencional de 70% do parênquima após isquemia quente, única e contínua de 10 minutos.
		D1	Coleta sanguínea → Remoção do remanescente hepático → Eutanásia
Grupo 3 - Com Pré-Condicionamento	8	D0	Coleta sanguínea → Pré-Condicionamento isquêmico do fígado através do clampeamento do hilo hepático por 10 minutos e posteriores 10 minutos de reperfusão, prévios a um período maior de isquemia quente, única e contínua para a execução da hepatectomia de 70% do parênquima.
		D1	Coleta sanguínea → Remoção do remanescente hepático → Eutanásia

Fonte: Elaboração própria

Grupo 1 - Sham: 8 animais, dos quais 4 foram submetidos, no D0 do experimento, à manipulação hepática, remoção completa do fígado e eutanásia por sobredose anestésica e 4 foram submetidos, no D0 do experimento, à coleta sanguínea seguida da abertura da cavidade e manipulação hepática e, 24 horas após, à coleta sanguínea seguida da remoção completa do fígado e morte sem sofrimento por sobredose anestésica.

Grupo 2 - Sem Pré-Condicionamento: 8 animais, submetidos, no D0 do experimento, à coleta de sangue seguida de hepatectomia convencional de 70% do parênquima após isquemia quente, única e contínua de 10 minutos. E, 24 horas após, submetidos à nova coleta de sangue seguida de ressecção do remanescente hepático e morte sem sofrimento por sobredose anestésica.

Grupo 3 - Com Pré-Condicionamento: 8 animais, submetidos, no D0 do experimento, à coleta de sangue seguida de um pré-condicionamento isquêmico do fígado através do clampeamento do hilo hepático por 10 minutos e posteriores 10 minutos de reperfusão, prévios a um período maior de isquemia quente, única e contínua para a ressecção do espécime cirúrgico, conforme modelo estabelecido por Clavien *et al.* (10). Vinte e quatro

horas após, foram submetidos à nova coleta de sangue seguida de ressecção do remanescente hepático e morte sem sofrimento por sobredose anestésica.

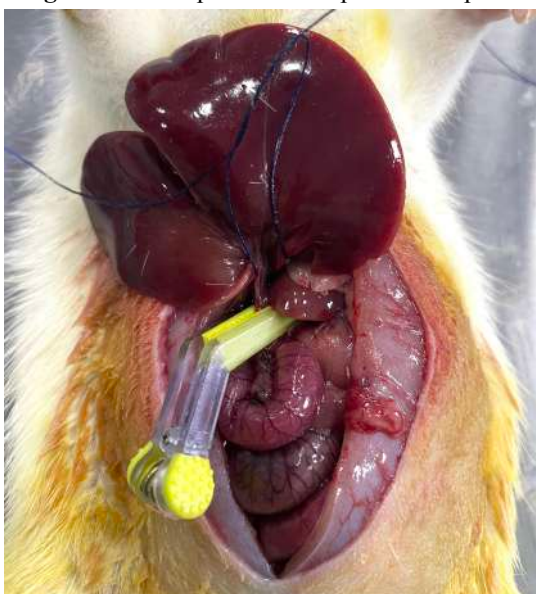
5.5 PROCEDIMENTOS DETALHADOS

Os espécimes utilizados foram inicialmente pesados e, então, anestesiados com uma solução de 100mg/Kg de cloridrato de cetamina e 10mg/Kg de cloridrato de xilazina, por via intraperitoneal. Testes de reflexo palpebral, corneal e de pinçamento da cauda, foram realizados para avaliar o plano anestésico. Em seguida, foi realizada a coleta sanguínea de 20 dos 24 animais, por punção da veia gengival.

Antes do início do procedimento cirúrgico, a região abdominal dos animais foi tricotomizada e submetida à assepsia com solução de polivinilpirrolidona iodada degermante a 10% seguida da aplicação de solução de polivinilpirrolidona iodada tópica a 10%.

No D0, todos os animais foram submetidos por uma laparotomia mediana de 4cm, a partir do apêndice xifóide. Quatro animais do Grupo Sham tiveram o fígado eviscerado e manipulado e, sequencialmente, inteiramente removido, sem isquemia e 4 tiveram o fígado eviscerado e manipulado e, sequencialmente, devolvido à cavidade abdominal. Nos ratos do Grupo Sem Pré-Condicionamento, após a evisceração do órgão, o hilo hepático foi exposto e clampeado com o auxílio de uma pinça atraumática, tipo bulldog, para a realização da ligadura do pedículo dos lobos lateral esquerdo e mediais e a posterior remoção dos mesmos, ou seja, uma hepatectomia de 70% do parênquima. (Figura 7).

Figura 7 - Clampeamento do pedículo hepático



Fonte: Própria do autor.

Já nos animais do Grupo Com Pré-Condicionamento, após eviscerado o fígado, o fluxo sanguíneo hepático foi interrompido por 10 minutos, através do clampeamento do hilo hepático e, em seguida, retomado por 10 minutos (pré-condicionamento). Findado o tempo da reperfusão, novo clampeamento foi realizado, para a realização da hepatectomia de 70% do parênquima. Ao término de todas as cirurgias, procedemos a síntese da cavidade abdominal, em plano único com fio de nylon 3.0 em sutura contínua, tipo chuleio e a administração subcutânea de cloridrato de tramadol 15mg/Kg de peso do animal.

Os animais foram acondicionados nas gaiolas de polipropileno com oferta livre de ração e de solução de água com cloridrato de tramadol a 0,5mg/mL. Não foi ofertado anti-inflamatório por razões de conflito com o objetivo do estudo.

No D1, foram realizados os mesmos procedimentos de anestesia e coleta de sangue. Em seguida, os animais foram submetidos à reabertura da cavidade e remoção de todo o tecido hepático existente. Imediatamente, foi aplicada, via intraperitoneal, por visão direta, dose dobrada da solução anestésica para obtenção de eutanásia.

5.6 COLETA DO MATERIAL

Foram colhidas amostras de tecido sanguíneo e tecido hepático de todos os animais.

5.6.1 Coleta da amostra de tecido sanguíneo

Após anestesiados, os animais foram submetidos à coleta sanguínea conforme explicitado anteriormente, nos dias zero e um do experimento, antes dos atos operatórios, propriamente ditos.

Utilizamos uma seringa de 1mL, previamente heparinizada com heparina sódica 5.000 UI/mL, acoplada a uma agulha de 13 x 4,5mm. A técnica de coleta foi realizada com o posicionamento do rato em decúbito dorsal e exposição da veia gengival através de uma discreta tração do lábio inferior. Aproximadamente 2mm da agulha foi inserida, com o bisel voltado para cima, entre os incisivos inferiores do animal, formando um ângulo de 20° em relação a eles (Figura 8). O êmbolo foi puxado lenta e continuamente até atingir cerca de 0,6 a 0,8mL de sangue.

Figura 8 - Coleta sanguínea do rato por punção da veia gengival.



Fonte: Própria do autor.

Uma vez retirada a agulha, foi realizada a hemostasia pressionando suavemente o local da punção.

O material coletado foi transferido para um microtubo de centrifugação do tipo eppendorf e enviado para o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho para processamento.

5.6.2 Coleta da amostra de tecido hepático

O tecido hepático removido, no D0 e no D1 do experimento, foi depositado em uma placa de Petri e seccionado de modo a reservar cerca de 50% do parênquima mais distal de cada lobo para a análise cromatográfica. Esses fragmentos foram depositados em solução salina a 0.9% e conservados a -80°C até a data do processamento no Instituto de Nutrição Josué de Castro da UFRJ.

Os fragmentos proximais foram lavados com solução salina tamponada com fosfato (PBS, *phosphate-buffered saline*) e, posteriormente, armazenadas em paraformaldeído a 4% até a data do processamento histológico.

5.7 PROCESSAMENTO DO MATERIAL

5.7.1 Processamento da amostra de tecido sanguíneo

As amostras foram centrifugadas a 20°C e 5.000 rpm, durante 5 minutos. O soro obtido foi posicionado no analisador químico AU5800 (*Beckman Coulter, Inc. USA*), assim como os reagentes OSR6607 e OSR6109, para quantificação das enzimas ALT e AST, respectivamente.

A análise enzimática e o cálculo da concentração ocorrem de modo automatizado pelo analisador, que imprime os resultados ao fim do teste.

5.7.2 Processamento da amostra de tecido hepático

Após seccionadas e imersas em diferentes soluções, as amostras de tecido hepático foram transportadas para processamento histológico e cromatográfico.

5.7.2.1 *Processamento histológico*

As amostras conservadas no paraformaldeído a 4% foram clivadas e desidratadas em 5 banhos, de 50 minutos cada, com álcool na seguinte sequência de concentração: 70%, 95%, 100%, 100% e 100%. Após desidratadas, as peças foram diafanizadas em 2 banhos com xilol, de 50 minutos cada, e impregnadas por parafina a 60°C em 2 banhos, de 60 minutos cada. Posteriormente, foram realizados o emblocamento e corte dos blocos. Por fim, as lâminas foram coradas com os corantes Hematoxilina e Eosina, clareadas e montadas.

5.7.2.2 Processamento cromatográfico

A primeira etapa do processamento cromatográfico consistiu na homogeneização do tecido hepático com o auxílio de um pistilo de cerâmica. Em seguida, 100mg deste homogeneizado foram transferidos para um tubo de 15mL, o qual foi agitado no *Vortexer Shaker* (Thermo Scientific, Waltham, MA USA) por 30 segundos. As amostras foram submetidas a metilação direta com 15 uL de padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich, 25 mg/mL of ethanol puriss proanalysis) (133). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização por chama (GC-FID, *Gas Chromatography with Flame Ionization Detection*), utilizando o equipamento Agilent 7890A com coluna capilar Omegawax 320 (*fused silica capillary column, 30 m × 0,32 mm × 0,25 μm*; Supelco, Bellefonte, PA, EUA) e o software EZChrom Elite CDS (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA) para processamento dos dados.

As condições cromatográficas foram: temperaturas do injetor e detector fixadas em 260° e 270°C, respectivamente; temperatura inicial do forno em 120°C, aquecendo a 4°C/min até 180°C, temperatura mantida por 1 min, e aquecendo novamente a 3°C/min até 210°C e mantida por 15 min. Fluxo do gás de arraste (Hidrogênio) em 2,13 mL/min com *split* 1:20 e, para os gases da chama: 25 mL/min de gás auxiliar (Nitrogênio), 30 mL/min de Hidrogênio e 300 mL/min de ar sintético.

As identidades dos picos ésteres metílicos de ácidos graxos foram atribuídas pela comparação do tempo de retenção relativo, e/ou comprimento de cadeia equivalentes, com os picos do padrão conhecido de éster metílico de ácidos graxos comercial (*GLC 463 Reference Standard, Nu-Check Prep. Inc., Elysian, MN, EUA*). A quantificação de cada ácido graxo foi realizada utilizando-se a concentração de padrão interno como referência.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados levantados encontram-se na sessão Anexos. Eles foram tabulados em planilha do Excel, exportados para o *software* SPSS 28 (*Statistical Package for the Social Sciences-28, IBM, US*) e tratados por meio de estatística descritiva, com cálculos de medidas de tendência central. Para verificar a distribuição dos dados contínuos, foi usado o teste de

Kolmogorov-Smirnov. Na comparação entre os grupos, nas diferentes análises e tipos de cálculos foi utilizado o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

6 RESULTADOS

6.1 VALORES SÉRICOS DAS ENZIMAS HEPÁTICAS

As concentrações das enzimas hepáticas AST e ALT foram avaliadas nos grupos Sham, Sem Pré-Condicionamento e Com Pré-Condicionamento, nos dias zero e um do experimento. No D0, em todos os Grupos o sangue foi coletado antes de qualquer intervenção e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os Grupos, indicando a homogeneidade inicial das amostras. Os valores médios ($\pm$ erro padrão) obtidos foram: 1) Grupo Sham: AST - 103,75 ($\pm$ 36,68) e ALT - 48,75 ($\pm$ 6,75); 2) Grupo Sem Pré-Condicionamento: AST - 103,50 ($\pm$ 17,71) e ALT - 43,13 ($\pm$ 13,01); e 3) Grupo Com Pré-Condicionamento: AST - 113,13 ($\pm$ 30,90) e ALT - 43,63 ($\pm$ 10,08). Estes valores são condizentes com a literatura que admite um intervalo de referência de 22,68 a 45,64 U/L para a ALT e de 85,71 a 213,33 U/L para a AST em ratos Wistar, machos, com idade entre 10 e 14 semanas (134).

No D1, após as intervenções experimentais, os valores médios ($\pm$ erro padrão) observados foram: 1) Grupo Sham: AST - 188,75 ($\pm$ 27,64) e ALT - 54,00 ($\pm$ 14,58); 2) Grupo Sem Pré-Condicionamento: AST - 699,75 ($\pm$ 209,65) e 285,25 ($\pm$ 156,45); e 3) Grupo Com Pré-Condicionamento: AST - 483,00 ($\pm$ 109,68) e ALT - 221,13 ($\pm$ 89,70).

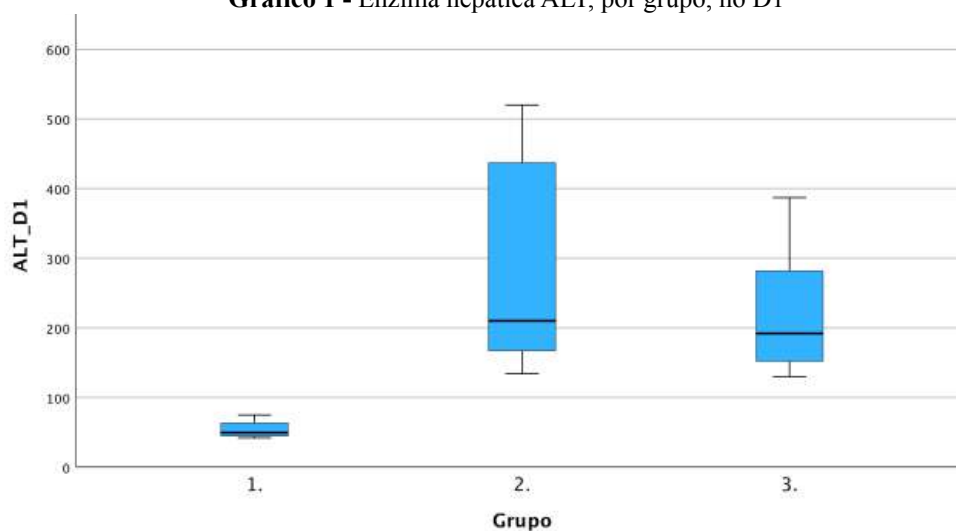
A análise estatística revelou diferenças significativas entre os Grupos no D1. Para a enzima ALT houve diferenças entre o Grupo Sham e Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.01$) e entre o Grupo Sham e Com Pré-Condicionamento ($p = 0.01$), enquanto a comparação entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento não apresentou significância estatística. Para a enzima AST, foi observada uma diferença significativa entre o Grupo Sham e Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.001$) entre o Grupo Sham e o Grupo Com Pré-Condicionamento ($p < 0.05$) e entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento ($p = 0.05$), conforme relatado na Tabela 1.

Tabela 1 - Enzimas hepáticas, por grupo

Variável	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
ALT - D0	48,75 ($\pm$ 6,75)	43,13 ($\pm$ 13,01)	43,63 ($\pm$ 10,08)
AST - D0	103,75 ($\pm$ 36,68)	103,50 ($\pm$ 17,71)	113,13 ($\pm$ 30,90)
ALT - D1	54,00 ($\pm$ 14,58)	285,25 ($\pm$ 156,45) ^a	221,13 ($\pm$ 89,70) ^a
AST - D1	188,75 ($\pm$ 27,64)	699,75 ($\pm$ 209,65) ^a	483,00 ($\pm$ 109,68) ^{a, b}

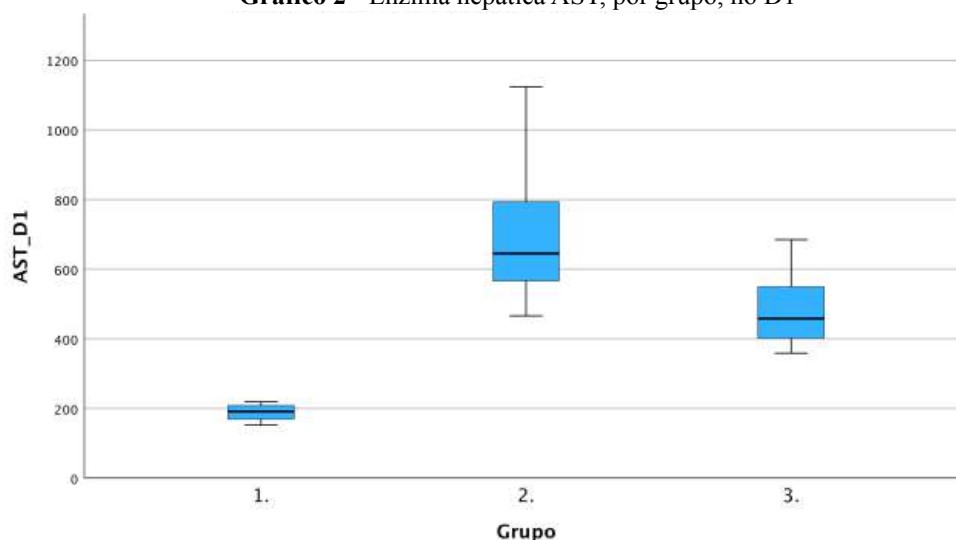
Dados apresentados em U/L. Valores de média ($\pm$ erro padrão). $p \leq 0.05$: ^a *versus* D1 daquela enzima no GS, ^b *versus* D1 daquela enzima no GSPC.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 1 - Enzima hepática ALT, por grupo, no D1

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 2 - Enzima hepática AST, por grupo, no D1

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.2 HISTOLOGIA DAS AMOSTRAS HEPÁTICAS

As lâminas foram lidas utilizando um microscópio *Eclipse E200* (Nikon Instruments, Melville, NY USA) por uma histologista independente, que desconhecia as intervenções aplicadas aos grupos.

Foi utilizado o aumento de 100x para avaliação da presença de necrose, congestão sinusoidal, infiltrado neutrofílico e esteatose, e o aumento de 400x para contagem de células de Kupffer hemofagocitando.

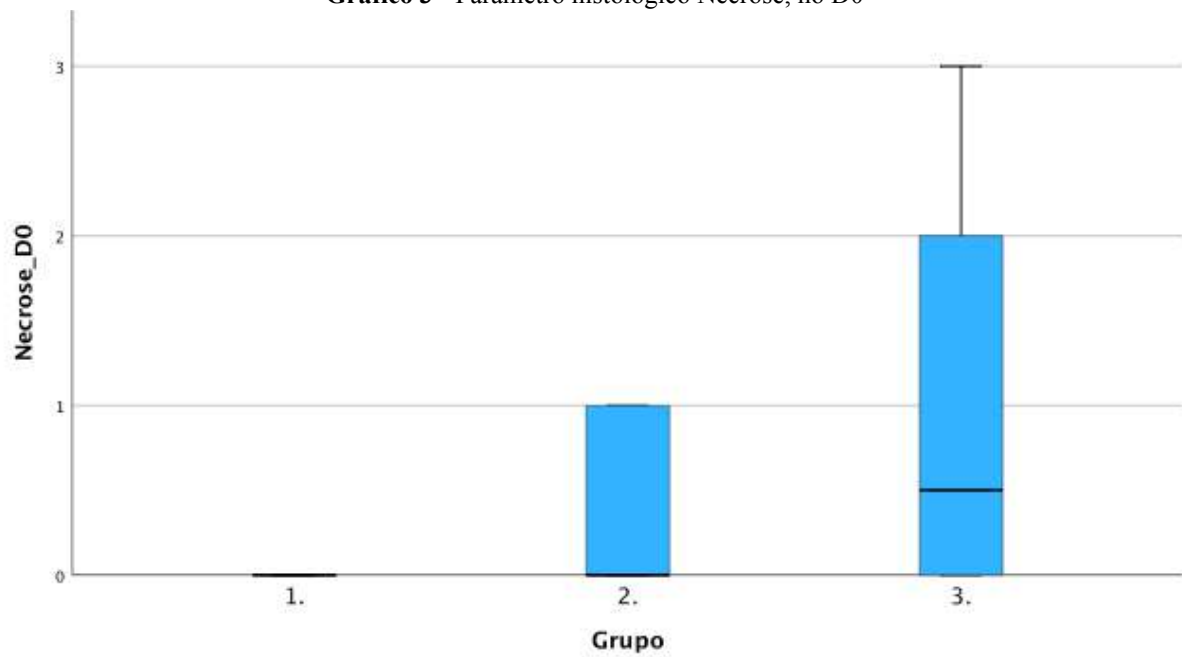
Empregando a escala (Quadro 3) proposta por Nascimento (135), que atribui uma pontuação crescente quanto mais intensa for a presença das lesões supramencionadas, convertemos as imagens histológicas de dez campos aleatórios e não sequenciais em dados numéricos, os quais foram tabelados, respeitando os Grupos e dias específicos, e utilizados para realizar a análise estatística.

Quadro 3 - Escala de pontuação histológica

INTENSIDADE	PONTUAÇÃO
Ausente	0
Presente em até 25% do campo avaliado	1
Presente de 25 a 50% do campo avaliado	2
Presente em mais de 50% do campo avaliado	3

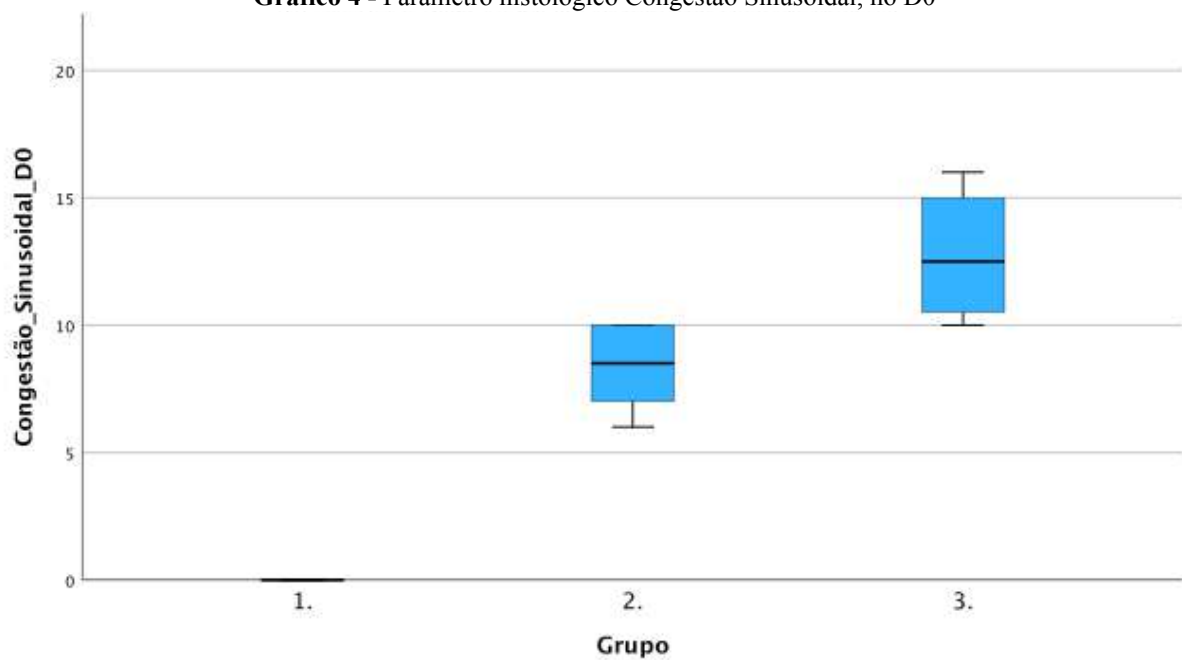
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados, expressos nos Gráficos 3 a 7 abaixo, revelaram que, no D0, ressalvada a necrose, todos os demais parâmetros estavam presentes de modo significativamente mais acentuado no Grupo Com Pré-Condicionamento quando comparado tanto com o Grupo Sham (Congestão Sinusoidal: $p < 0.01$, EP: 3.579, Infiltrado Neutrofílico: $p < 0.01$, EP: 3.369, Kupffer hemofagocitando: $p < 0.01$, EP: 3.587, Esteatose: $p < 0.01$, EP: 3.537), quanto com o Grupo Sem Pré-Condicionamento (Congestão Sinusoidal: $p = 0.01$, EP: 2.922, Infiltrado Neutrofílico: $p < 0.01$, EP: 2.751, Kupffer hemofagocitando: $p = 0.01$, EP: 2.922, Esteatose: $p = 0.02$, EP: 2.888). Entre os Grupos Sham e Sem Pré-Condicionamento, nenhum dos parâmetros apresentou diferença estatisticamente significativa.

Gráfico 3 - Parâmetro histológico Necrose, no D0

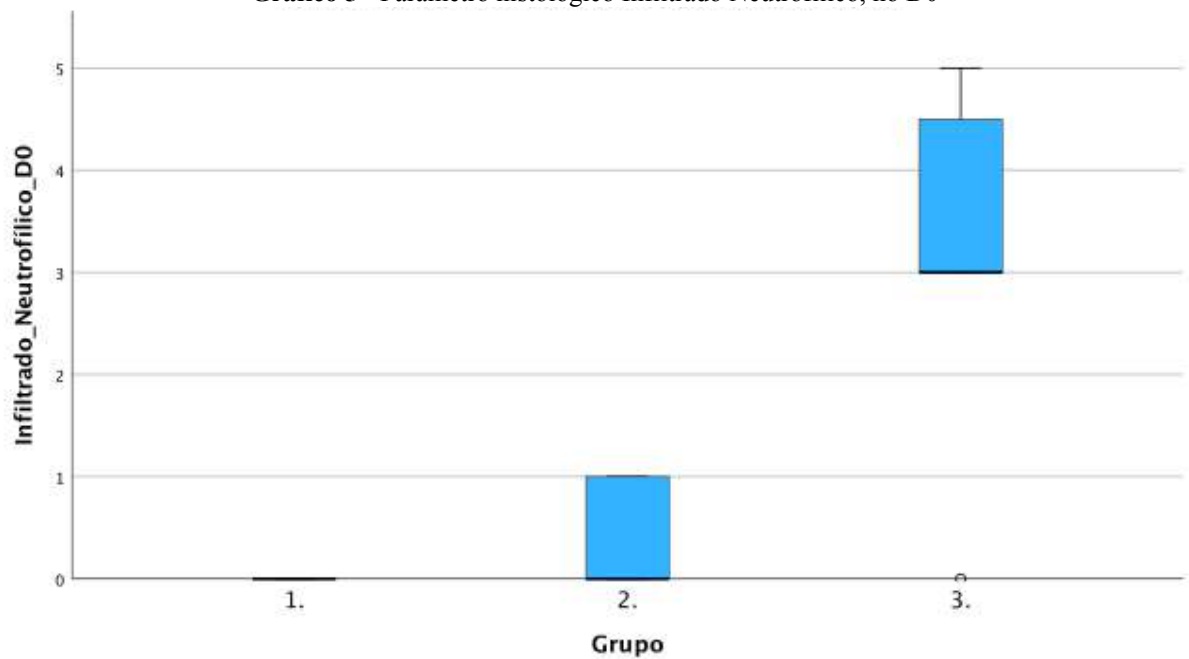
Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 4 - Parâmetro histológico Congestão Sinusoidal, no D0

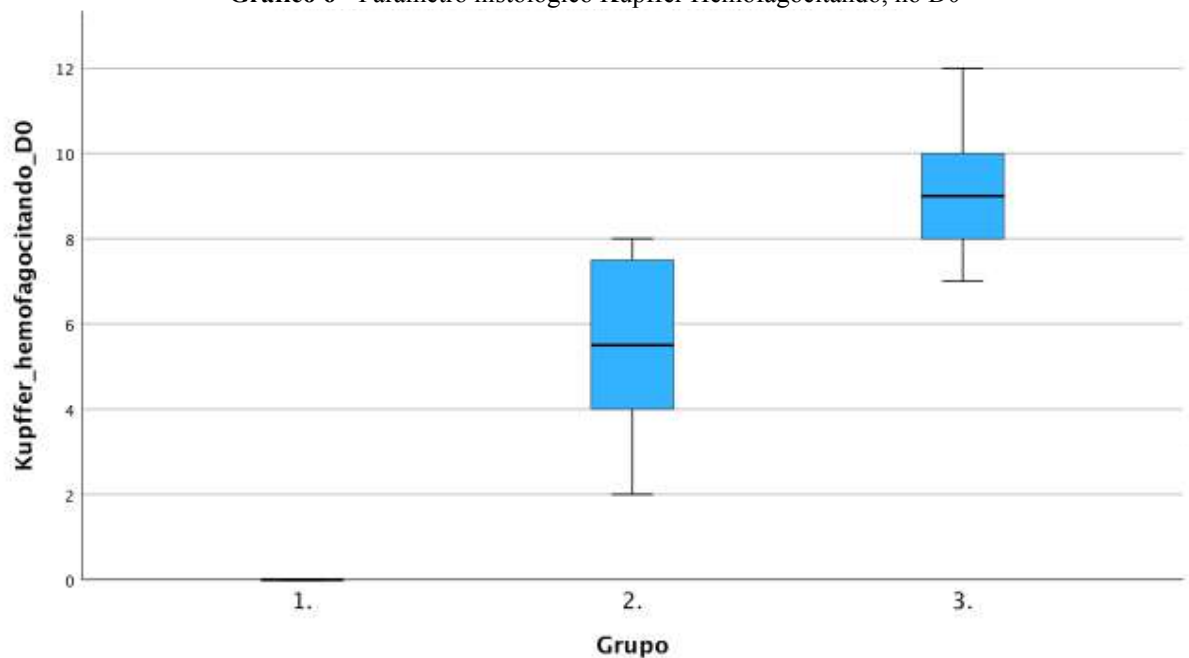
Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 5 - Parâmetro histológico Infiltrado Neutrofilico, no D0

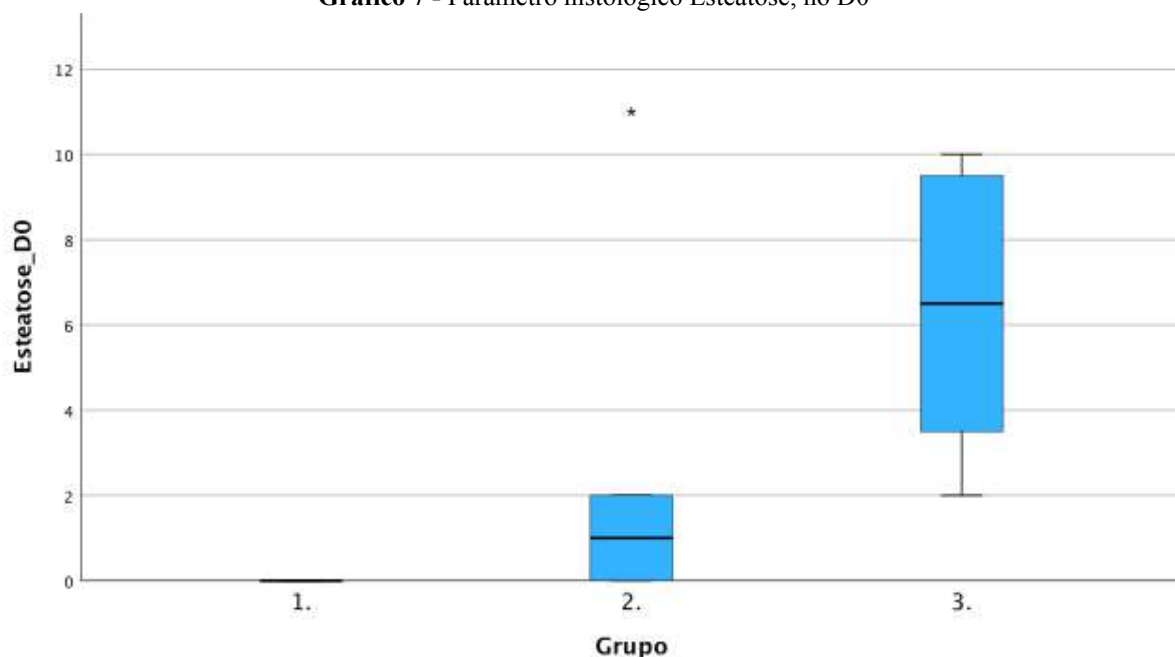
Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 6 - Parâmetro histológico Kupffer Hemofagocitando, no D0

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

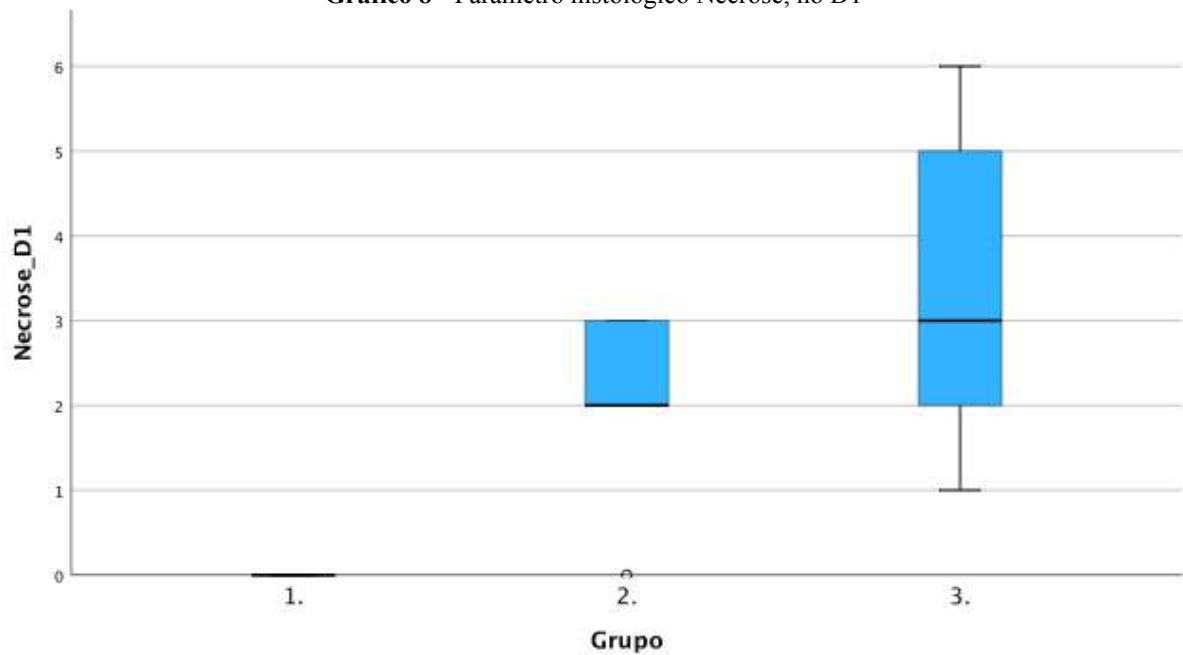
Gráfico 7 - Parâmetro histológico Esteatose, no D0

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

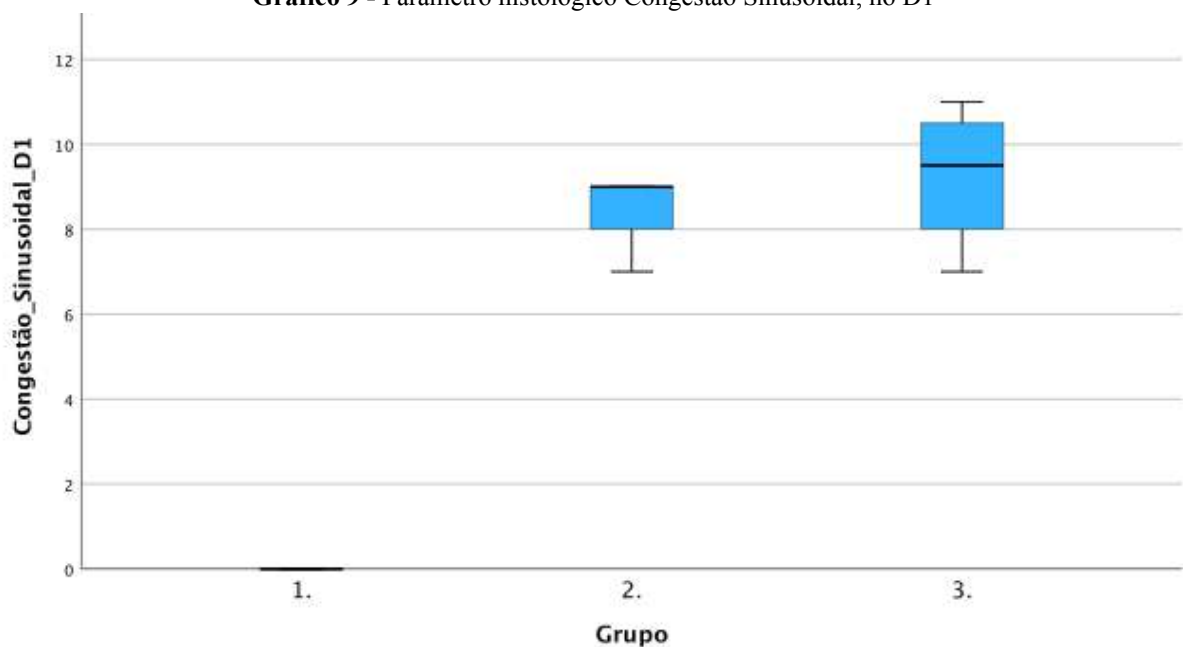
No D1, houve diferença significativa, na comparação entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento, apenas para o infiltrado neutrofílico que se mostrou mais intenso no Grupo Com-Pré Condicionamento, de modo relevante ($p < 0.01$, EP: 2.904).

Em relação ao Grupo Sham, houve diferença significativa para quatro dos cinco parâmetros, na comparação com o Grupo Sem Pré-Condicionamento (Necrose: $p = 0.02$, EP: 3.518, Congestão Sinusoidal: $p = 0.01$, EP: 3.522, Kupffer hemofagocitando: $p < 0.01$, EP: 3.569, Esteatose: $p = 0.01$, EP: 3.585) e de todos os parâmetros na comparação com o Grupo Com Pré-Condicionamento (Necrose: $p < 0.01$, EP: 3.518, Congestão Sinusoidal: $p < 0.01$, EP: 3.522, Infiltrado Neutrofílico: $p < 0.01$, EP: 3.557, Kupffer hemofagocitando: $p < 0.01$, EP: 3.569, Esteatose: $p < 0.01$, EP: 3.585). Os dados referentes ao D1 estão representados nos Gráficos 8 a 12, a seguir, e os dados globais estão descritos na Tabela 2, ao final deste tópico.

Gráfico 8 - Parâmetro histológico Necrose, no D1

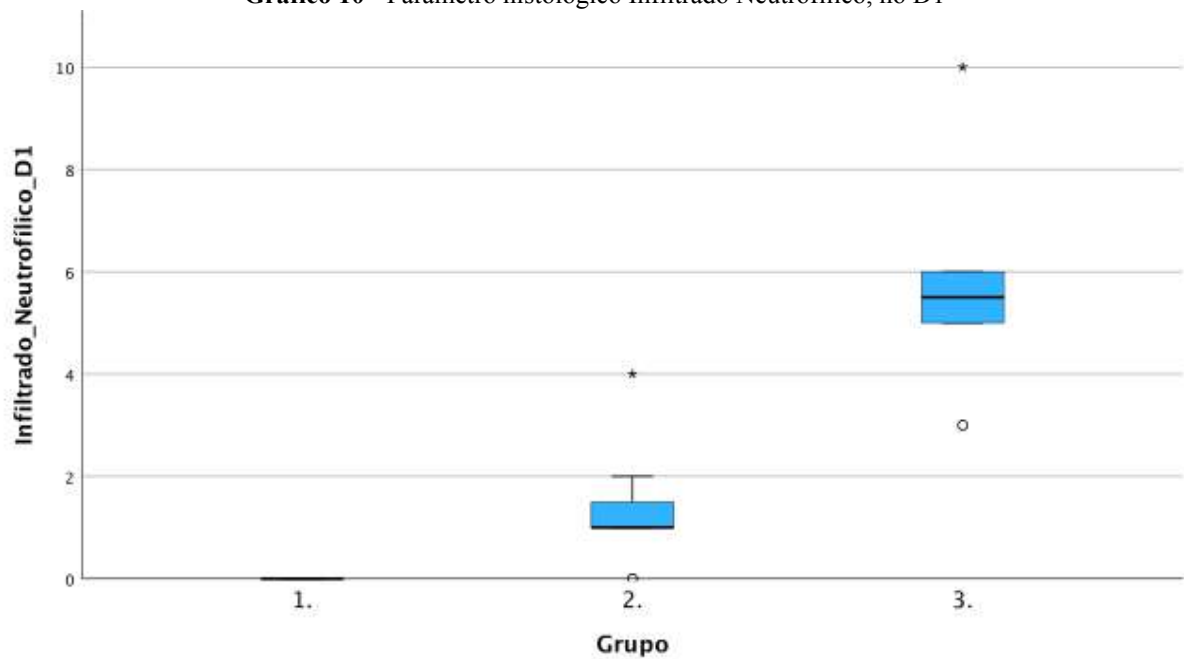
Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 9 - Parâmetro histológico Congestão Sinusoidal, no D1

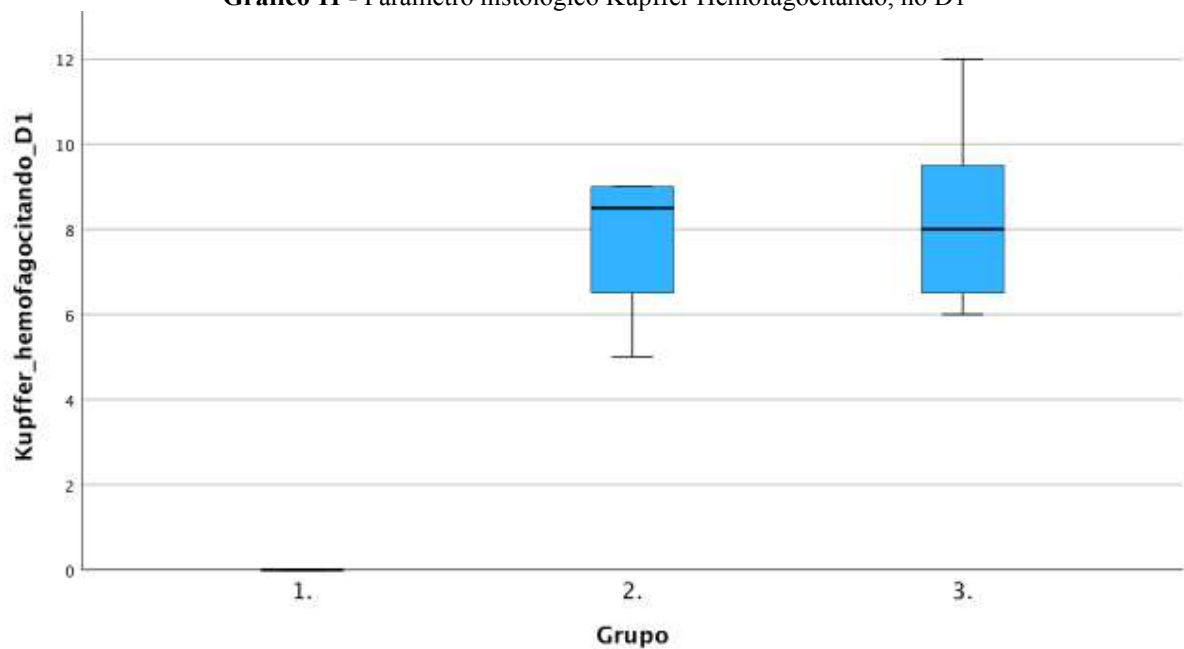
Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 10 - Parâmetro histológico Infiltrado Neutrofílico, no D1

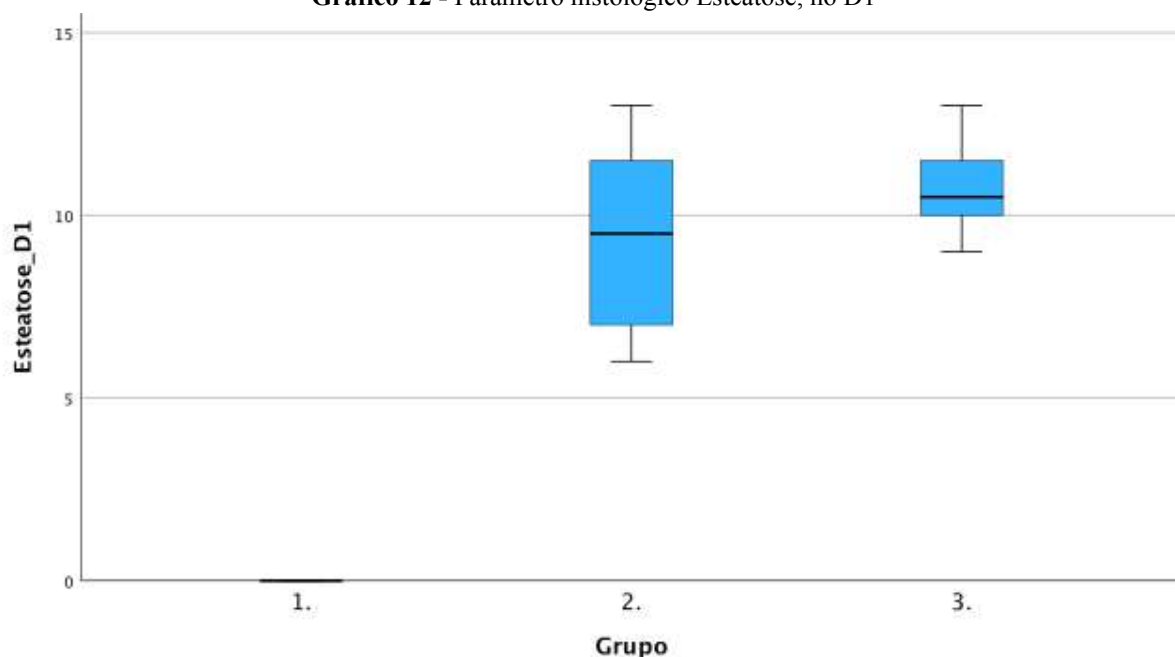
Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 11 - Parâmetro histológico Kupffer Hemofagocitando, no D1

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 12 - Parâmetro histológico Esteatose, no D1

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 2 - Médias dos parâmetros histológicos

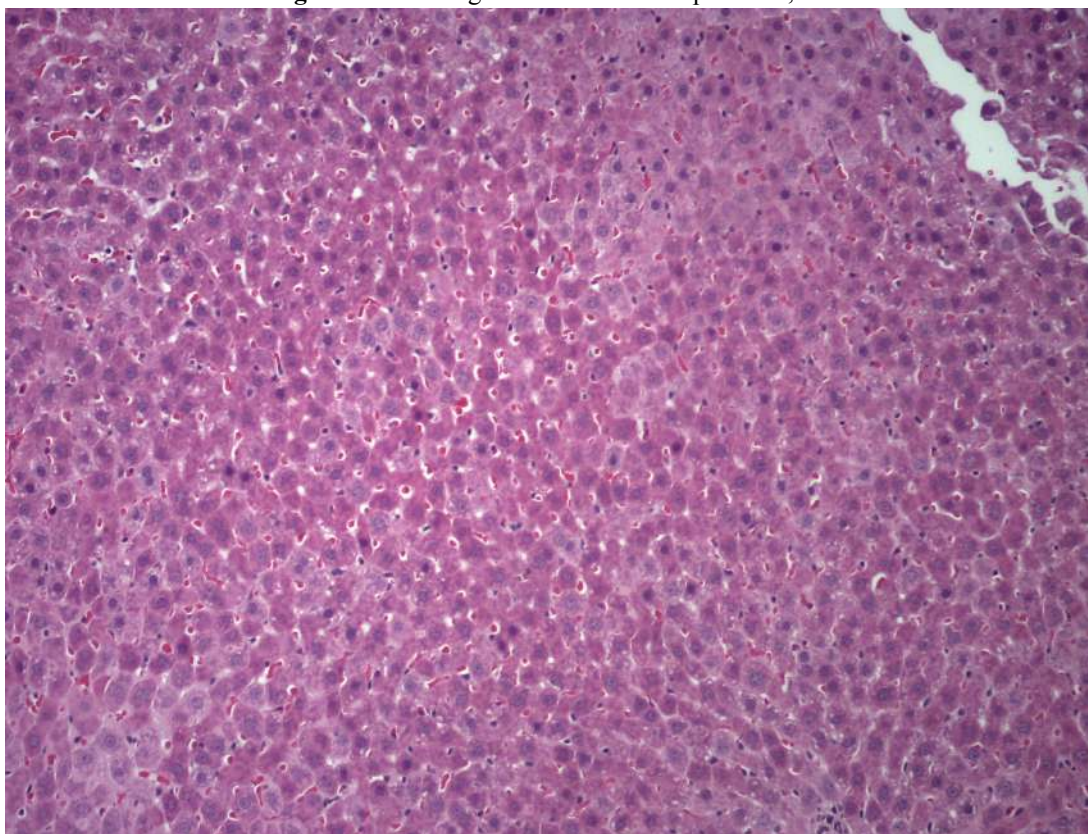
Variável	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)		Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)		Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)	
	D0	D1	D0	D1	D0	D1
Necrose	0,00	0,00	0,38 (± 0,51)	2,13 (± 0,99) ^b	1,00 (± 1,19)	3,38 (± 1,84) ^b
Congestão Sinusoidal	0,00	0,00	8,38 (± 1,59)	8,50 (± 0,92) ^b	12,75 (± 2,43) ^a	9,25 (± 1,48) ^b
Infiltrado Neutrofílico	0,00	0,00	0,38 (± 0,51)	1,38 (± 1,18)	3,25 (± 1,58) ^a	5,75 (± 1,98) ^{b, c}
Kupffer hemofagocitando	0,00	0,00	5,50 (± 2,13)	7,75 (± 1,58) ^b	9,13 (± 1,64) ^a	8,25 (± 2,05) ^b
Esteatose	0,00	0,00	2,13 (± 3,68)	9,38 (± 2,61) ^b	6,38 (± 3,16) ^a	10,75 (± 1,28) ^b

Valores de média ± desvio padrão. $p \leq 0.05$: ^a *versus* D0 daquela variável no GS e no GSPC, ^b *versus* D1 daquela variável no GS, ^c *versus* D1 daquela variável no GSPC.

Fonte: Elaboração própria.

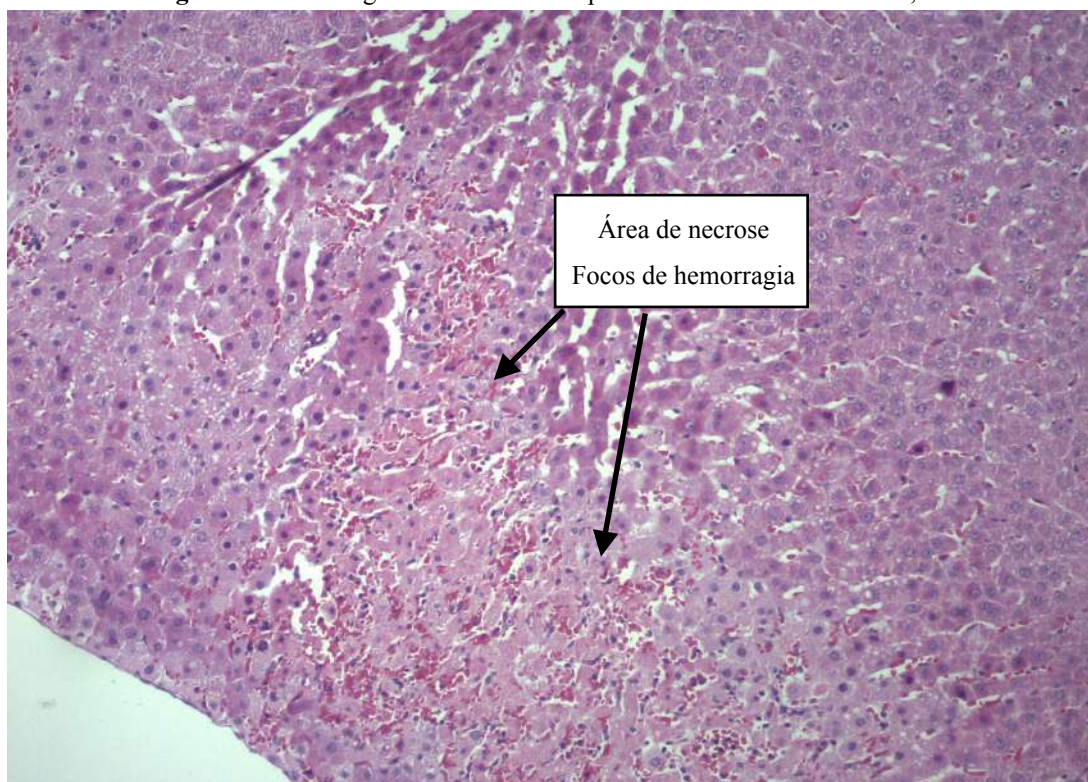
Foram notadas figuras de mitose em algumas lâminas do D1 do Grupo Com Pré-Condicionamento, porém, por se tratar de achado isolado e devido ao fato do método hematoxilina-eosina não ser o melhor para este tipo de análise, não foi realizada análise estatística deste achado. Algumas das lâminas analisadas estão dispostas nas Figuras de 9 a 12, a seguir.

Figura 9 - Histologia de animal do Grupo Sham, D1



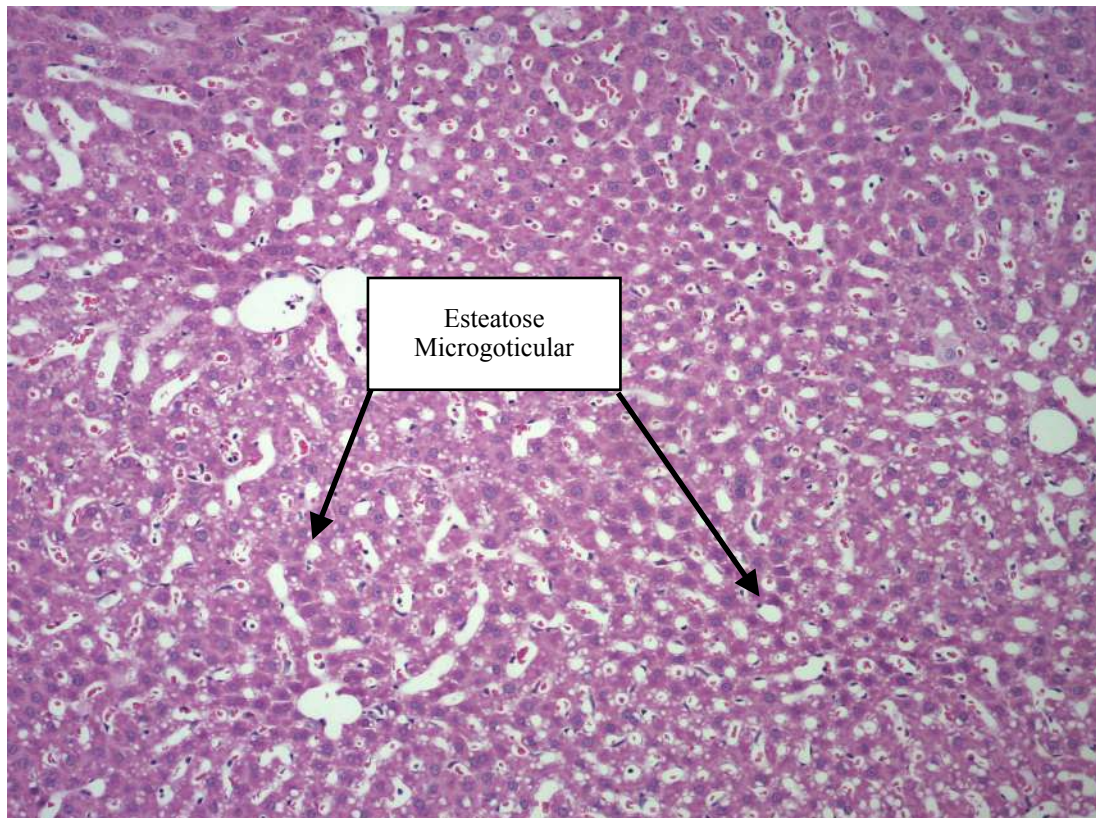
Tecido hepático normal.
Fonte: Própria do autor.

Figura 10 - Histologia de animal do Grupo Sem Pré-Condicionamento, D1



Presença de necrose focal e hemorragia.
Fonte: Própria do autor.

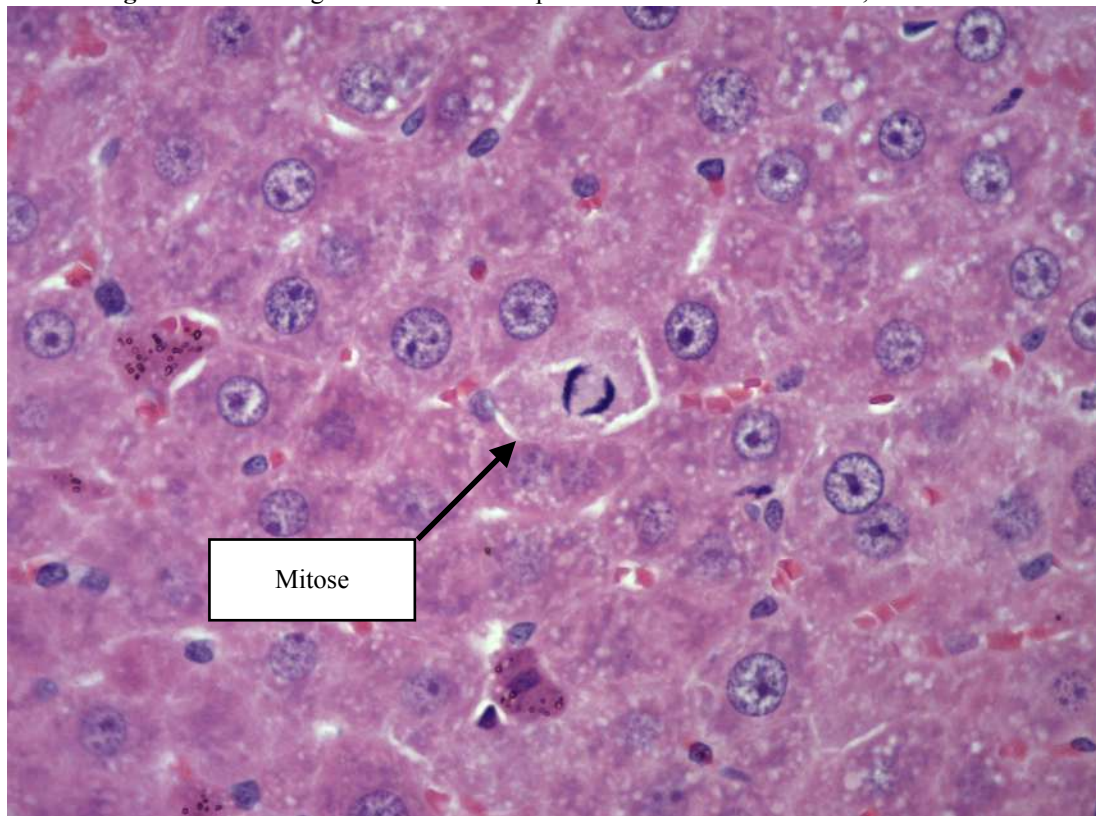
Figura 11 - Histologia de animal do Grupo Com Pré-Condicionamento, D1



Esteatose microgoticular.

Fonte: Própria do autor.

Figura 12 - Histologia de animal do Grupo Com Pré-Condicionamento, D1 - mitose.



Mitose.

Fonte: Própria do autor.

6.3 ÁCIDOS GRAXOS

Os resultados foram organizados de modo a exibir a comparação entre os grupos no D0 e, em seguida, a comparação entre os grupos no D1, para cada ácido graxo. Ao final, é apresentada uma síntese considerando o conjunto de resultados no D0 e no D1.

6.3.1 Ácidos Graxos Saturados

6.3.1.1 Ácido Palmítico

Os valores do Ácido Palmítico no D0 do Grupo Sham - referencial da normalidade no nosso trabalho - variaram de 402,23 a 545,36, enquanto que os valores dos Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento variaram de 491,36 a 673,54 e 513,71 a 743,97, respectivamente. Estes dados já revelam um aumento da concentração deste ácido graxo imediatamente após a agressão cirúrgica. E, embora não demonstrem diferença significativa entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento, evidenciam relevância na comparação entre estes Grupos e o Grupo Sham (*versus* GSPC - $p = 0.03$, EP: 3.623; *versus* GCPC - $p < 0.03$, EP: 3.623).

No D1, a variação dos valores foi de: 545,36 a 735,13 no Grupo Sham, 531,92 a 1.459,90 no Grupo Sem Pré-Condicionamento e 704,07 a 1299,15 no Grupo Com Pré-Condicionamento, mantendo a estatística de significância apenas para a comparação entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento com o Grupo Sham (GSPCxGS - $p < 0.04$, EP: 3.623; GCPCxGS - $p < 0.02$, EP: 3.623).

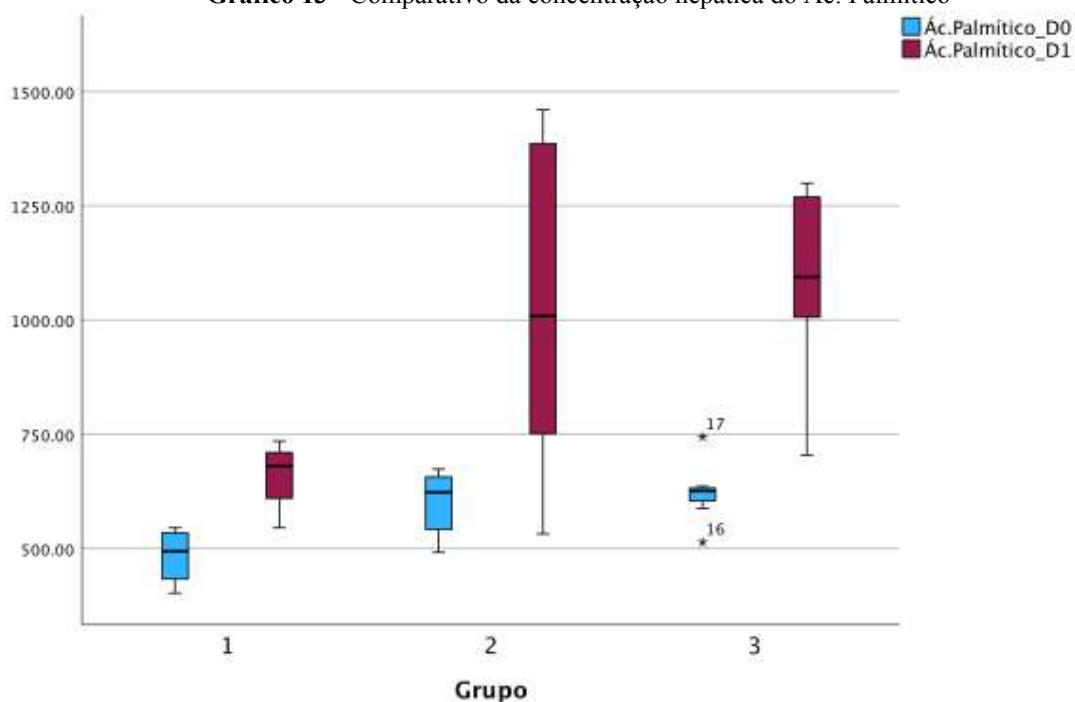
A seguir, na Tabela 3 e Gráfico 13, os dados por grupo.

Tabela 3 - Concentração hepática do Ácido Palmítico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	483,79 ($\pm$ 64,28)	600,91 ($\pm$ 70,97) ^a	622,56 ($\pm$ 63,28) ^a
D1	660,10 ($\pm$ 80,89)	1.035,42 ($\pm$ 355,90) ^b	1.092,60 ($\pm$ 199,99) ^b

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão). $p \leq 0.05$: ^a *versus* D0 do GS, ^b *versus* D1 do GS.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 13 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Palmítico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.1.2 Ácido Esteárico

No D0, os valores basais do Ácido Esteárico (Grupo Sham, D0) flutuaram entre 502,68 e 612,30, dígitos menores do que aqueles observados no Grupo Sem Pré-Condicionamento - 559,42 a 892,25 - e no Grupo Com Pré-Condicionamento - 628,57 a 787,00. Esta observação é validada pela relevância obtida na estatística da comparação do Grupo Sham, tanto com o Grupo Sem, quanto com o Grupo Com Pré-Condicionamento (GSPCxGS - $p < 0.03$, EP: 3.623; GCPCxGS - $p = 0.01$, EP: 3.623). Já entre estes dois últimos, não foi identificada diferença estatisticamente significativa.

No D1, registramos as seguintes variações na concentração do Ácido Esteárico: Grupo Sham: 612.30 a 800.89; Grupo Sem Pré-Condicionamento: 489,27 a 1.112,57; e Grupo Com Pré-Condicionamento: 467,59 a 958,21. O estudo estatístico, no D1, demonstrou perda da relevância documentada no D0, na comparação do Grupo Sham com os demais e ausência de significância entre os Grupos Com e Sem Pré-Condicionamento, embora perceba-se uma tendência de maiores concentrações do Ácido Esteárico, neste último.

Na sequência, na Tabela 4, as estatísticas do Ácido Esteárico, por grupo, e no Gráfico 14 o boxplot dos dias zero e um do experimento.

Tabela 4 - Concentração hepática do Ácido Esteárico, por grupo

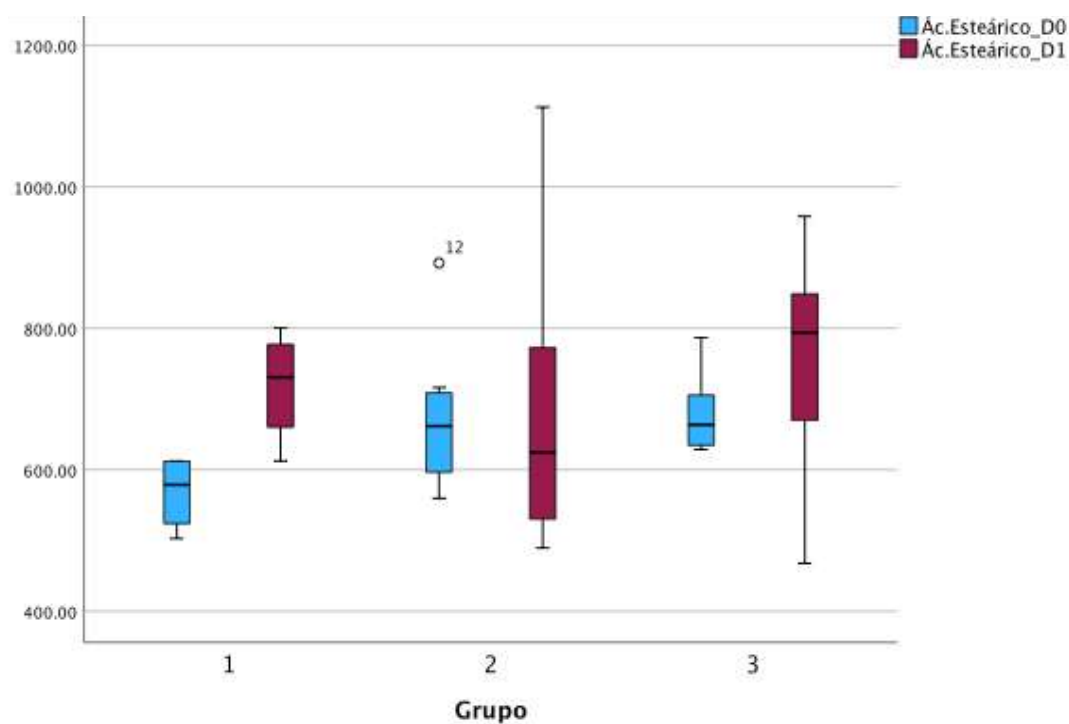
	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	568,01 ($\pm$ 53,88)	673,14 ($\pm$ 106,00) ^a	677,79 ($\pm$ 54,02) ^a
D1	718,63 ($\pm$ 80,39)	681,96 ($\pm$ 207,04)	756,24 ($\pm$ 153,57)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p < 0.05$: ^a versus D0 do GS.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 14 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Esteárico



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.2 Ácidos Graxos Monoinsaturados

6.3.2.1 Ácido Palmitoleico

Para o Ácido Palmitoleico, as concentrações mínimas observadas no D0 dos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento foram: 5,46; 8,89 e 5,92; e as máximas foram: 8,57, 17,08 e 20,05, respectivamente, com diferença estatisticamente significativa na comparação entre o Grupo Sham e os demais Grupos (*versus* GSPC - $p < 0.01$, EP: 3.623; *versus* GCPC - $p = 0.03$, EP: 3.623).

No D1, a variação do Grupo Sham foi entre 8,57 e 19,99, a do Grupo Sem Pré-Condicionamento foi entre 21,26 e 105,53 e a do Grupo Com Pré-Condicionamento entre 11,29 e 88,10, mantendo a significância apenas entre os Grupos Sham e os demais (*versus* GSPC - $p < 0.01$, EP: 3.623; *versus* GCPC - $p < 0.05$, EP: 3.623), conforme dados expostos na Tabela 5 e Gráfico 15.

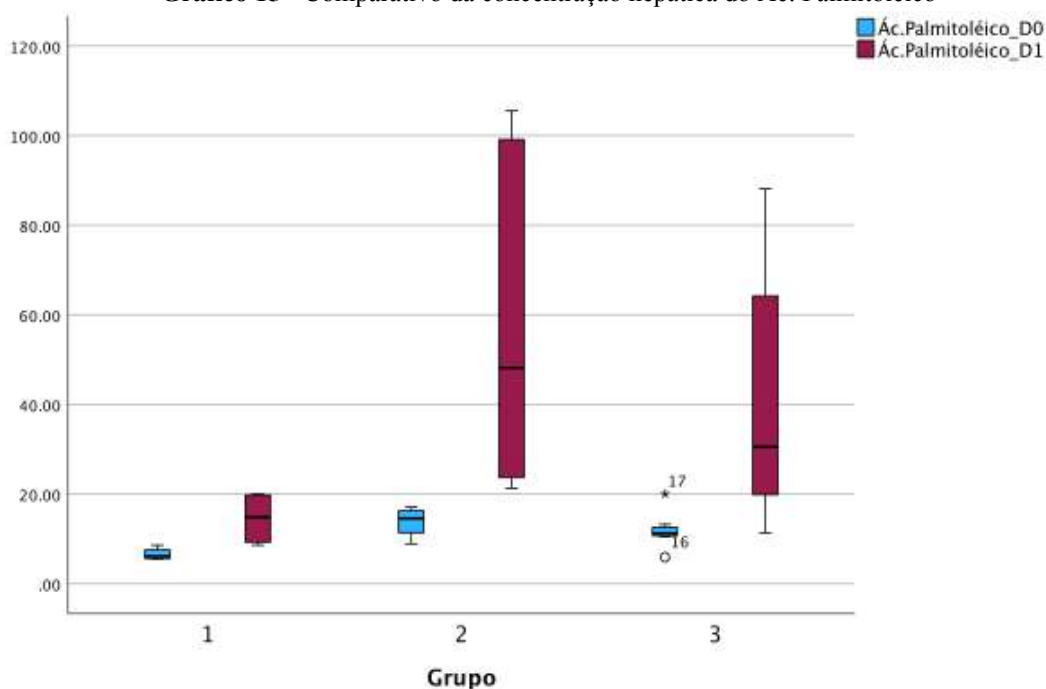
Tabela 5 - Concentração hepática do Ácido Palmitoleico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	6,57 ($\pm 1,40$)	13,80 ($\pm 3,03$) ^a	11,88 ($\pm 3,92$) ^a
D1	14,54 ($\pm 6,09$)	58,59 ($\pm 38,57$) ^b	41,07 ($\pm 27,68$) ^b

Dados expressos em média ($\pm$ desvio padrão).

$p < 0.05$: ^a *versus* D0 do GS, ^b *versus* D1 do GS

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 15 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Palmitoleico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.2.2 Ácido Oleico

No D0, a análise do Ácido Oleico revela como valores mínimos de sua concentração nos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento, os seguintes dígitos, respectivamente: 131,60; 182,17 e 153,55. Já as máximas foram, respectivamente: 168,33; 291,84 e 327,42. A análise estatística demonstrou diferença significativa entre o Grupo Sham e os demais (*versus* GSPC - $p < 0.02$, EP: 3.623; *versus* GCPC - $p < 0.01$, EP: 3.623).

No D1, a concentração do Ácido Oleico no tecido hepático dos ratos, apresentou os seguintes valores: Grupo Sham - mínima de 160,64 e máxima de 258,64, Grupo Sem Pré-Condicionamento: mínima de 265,59 e máxima de 1.386,89 e Grupo Com Pré-Condicionamento: mínima de 224,13 e máxima de 924,90, havendo diferença significativa apenas para a comparação do Grupo Sham com os demais (*versus* GSPC - $p < 0.01$, EP: 3.623; *versus* GCPC - $p < 0.01$, EP: 3.623). Os dados, por grupo, estão expostos na Tabela 6 e Gráfico 16.

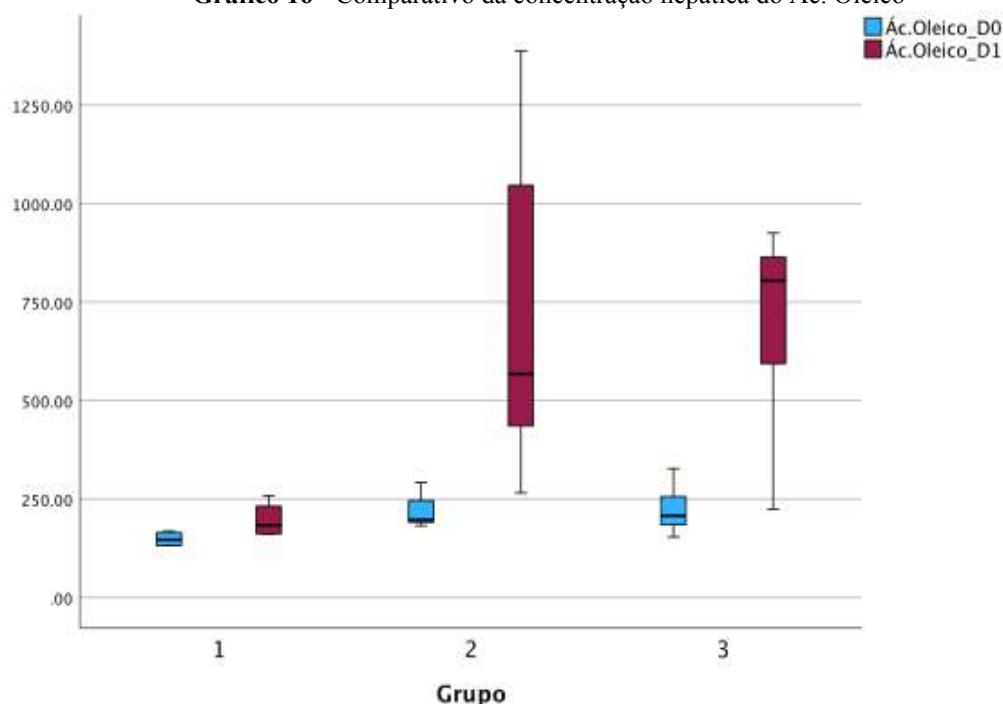
Tabela 6 - Concentração hepática do Ácido Oleico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	148,13 ($\pm$ 19,14)	217,75 ($\pm$ 42,01) ^a	222,05 ($\pm$ 55,82) ^a
D1	196,69 ($\pm$ 45,97)	718,75 ($\pm$ 393,12) ^b	709,20 ($\pm$ 237,25) ^b

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

p < 0.05: p < 0.05: ^a versus D0 do GS, ^b versus D1 do GS

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 16 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Oleico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3 Ácidos Graxos Poliinsaturados

6.3.3.1 Da série ômega-3

6.3.3.1.1 Ácido Alfa-Linolênico

Os valores do Ácido Alfa-Linolênico no D0 do Grupo Sham variaram de 5,85 a 10,79, enquanto que os valores dos Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento variaram de 4,58 a 21,64 e 4,34 a 18,23, respectivamente. Estes dados já revelam um aumento da concentração deste ácido graxo, imediatamente após a agressão cirúrgica, especialmente no Grupo Sem

Pré-Condicionamento, embora não demonstrem diferença significativa na comparação entre Grupos.

No D1, a variação dos valores foi de: 10,24 a 24,12 no Grupo Sham, 22,89 a 92,90 no Grupo Sem Pré-Condicionamento e 4,24 a 77,60 no Grupo Com Pré-Condicionamento e houve relevância estatística tanto na comparação entre os Grupos Sham e Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.02$, EP: 3.623) como entre os Grupos Sham e Com Pré-Condicionamento ($p < 0.04$, EP: 3.623), com valores de p mais baixos na primeira comparação, reforçando a tendência do D0, de um aumento mais expressivo no Grupo Sem Pré-Condicionamento. A seguir, na Tabela 7 e Gráfico 17, os dados por grupo.

Tabela 7 - Concentração hepática do Ácido Alfa-Linolênico, por grupo

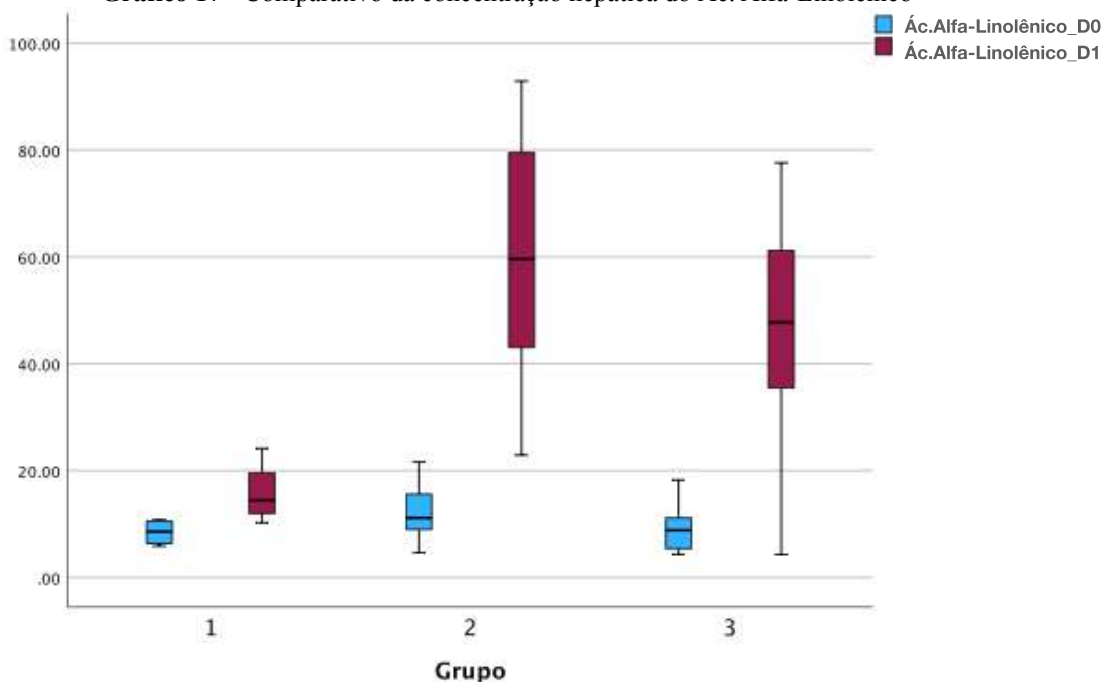
	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	8,44 ($\pm$ 2,43)	12,20 ($\pm$ 5,77)	9,16 ($\pm$ 4,54)
D1	15,77 ($\pm$ 5,91)	60,01 ($\pm$ 24,76) ^a	46,32 ($\pm$ 23,63) ^a

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p \leq 0.05$: ^a *versus* D1 do Grupo Sham.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 17 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Alfa-Linolênico



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.1.2 Ácido Eicosapentaenóico

No D0 o EPA exibiu, no Grupo Sham, concentração mínima de 3,10 e máxima de 4,72. Mínima de 2,24 e máxima de 6,72, no Grupo Sem Pré-Condicionamento e mínima de 2,09 e máxima de 5,67, no Grupo Com Pré-Condicionamento, sem evidência de diferenças estatisticamente significante em nenhuma comparação entre Grupos.

No D1, houve um discreto aumento nos valores do Grupo Sham (concentração mínima de 4,10 e máxima de 8,95) e Com Pré-Condicionamento (concentração mínima de 2,98 e máxima de 13,45) e um aumento, um pouco mais expressivo, no Grupo Sem Pré-Condicionamento (concentração mínima de 6,12 e máxima de 17,80) o que resultou em relevância na comparação dele com o Grupo Sham ($p < 0.03$, EP: 3.623). A representação destas informações encontra-se, a seguir, na Tabela 8 e no Gráfico 18.

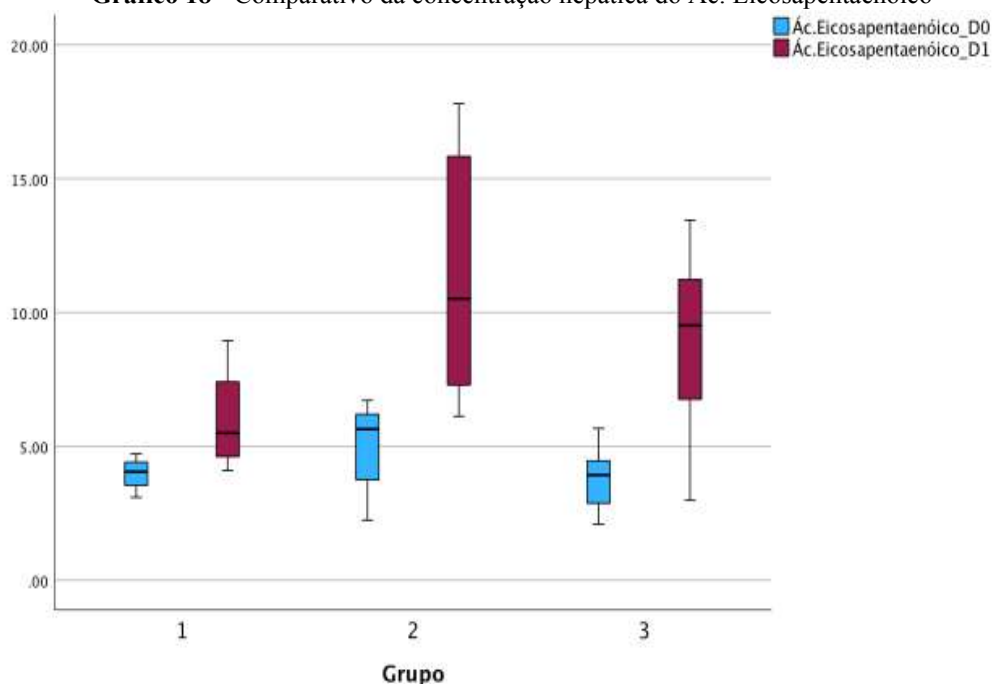
Tabela 8 - Concentração hepática do Ácido Eicosapentaenóico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	3,98 ($\pm 0,66$)	5,02 ($\pm 1,62$)	3,78 ($\pm 1,20$)
D1	6,01 ($\pm 2,08$)	11,40 ($\pm 4,64$) ^a	8,93 ($\pm 3,34$)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão). $p < 0.05$: ^a versus D1 do Grupo Sham.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 18 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Eicosapentaenóico



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.1.3 Ácido Docosahexaenóico

No D0, identificamos, como intervalo de referência da normalidade (Grupo Sham, D0), os valores: mínimo de 105,96 e máximo de 155,16. Quando submetidos à hepatectomia sem pré-condicionamento, observamos valores entre 51,25 e 195,16 e, quando o procedimento é precedido pelo condicionamento isquêmico, valores entre 23,15 e 96,51 são encontrados. A análise demonstra relevância significativa na comparação do Grupo Com Pré-Condicionamento com os demais Grupos (*versus* GS - $p < 0.02$, EP: 3.623; *versus* GSPC - $p = 0.01$, EP: 2.958).

No D1, encontramos os valores mínimos de 135,07; 58,53 e 21,49 e máximos de 174,45; 224,95 e 78,65 nos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento, respectivamente. Estes dados, quando analisados, ratificam a forte diferença estatística entre o Grupo Com Pré Condicionamento e os Grupos Sham ($p < 0.01$, EP: 3.623) e Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.01$, EP: 2.958), conforme se percebe na Tabela 9 e no Gráfico 19, a seguir.

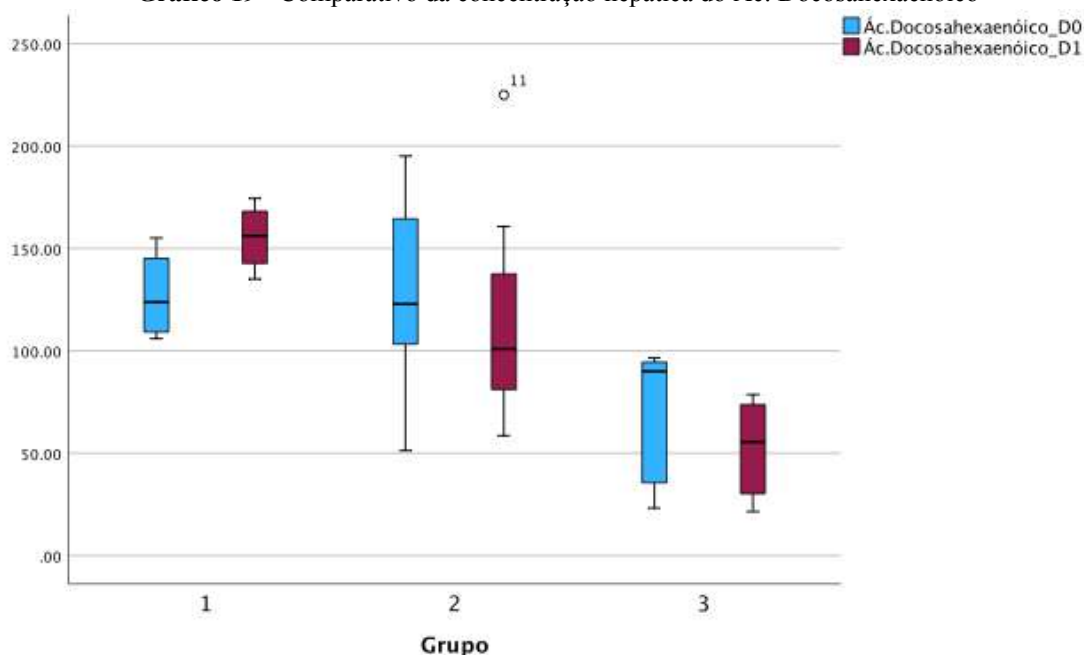
Tabela 9 - Concentração hepática do Ácido Docosahexaenóico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	127,17 ($\pm 22,44$)	128,44 ($\pm 46,56$)	69,96 ($\pm 32,50$) ^a
D1	155,45 ($\pm 16,76$)	115,32 ($\pm 53,67$)	52,36 ($\pm 23,14$) ^b

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p < 0.05$: ^a *versus* D0 dos Grupos Sham e Sem Pré- Condicionamento, ^b *versus* D1 dos Grupos Sham e Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.01$).

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 19 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Docosahexaenóico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.2 Da série ômega-6

6.3.3.2.1 Ácido Linoleico

No D0, as concentrações mínimas de Ácido Linoleico encontrada nos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento foram, respectivamente: 456,54; 419,35 e 392,81. Já as concentrações máximas foram 592,28; 858,90 e 692,30, sem diferença estatística em nenhuma comparação entre Grupos.

No D1, houve um pequeno aumento na concentração de Ácido Linoleico no Grupo Sham (concentração mínima: 579,52 / concentração máxima: 762,01) acompanhado de um aumento expressivo nos Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento, concentrações mínimas: 712,43 e 459,49 / concentrações máximas: 1.948,74 e 1777,32, respectivamente. Este acréscimo dissociado fez surgir uma diferença estatisticamente significativa na comparação do Grupo Sham com os demais Grupos (*versus* GSPC - $p < 0.02$, EP: 3.623; *versus* GCPC - $p < 0.04$, EP: 3.623).

A Tabela 10 e o Gráfico 20, adiante, resumem as informações supracitadas.

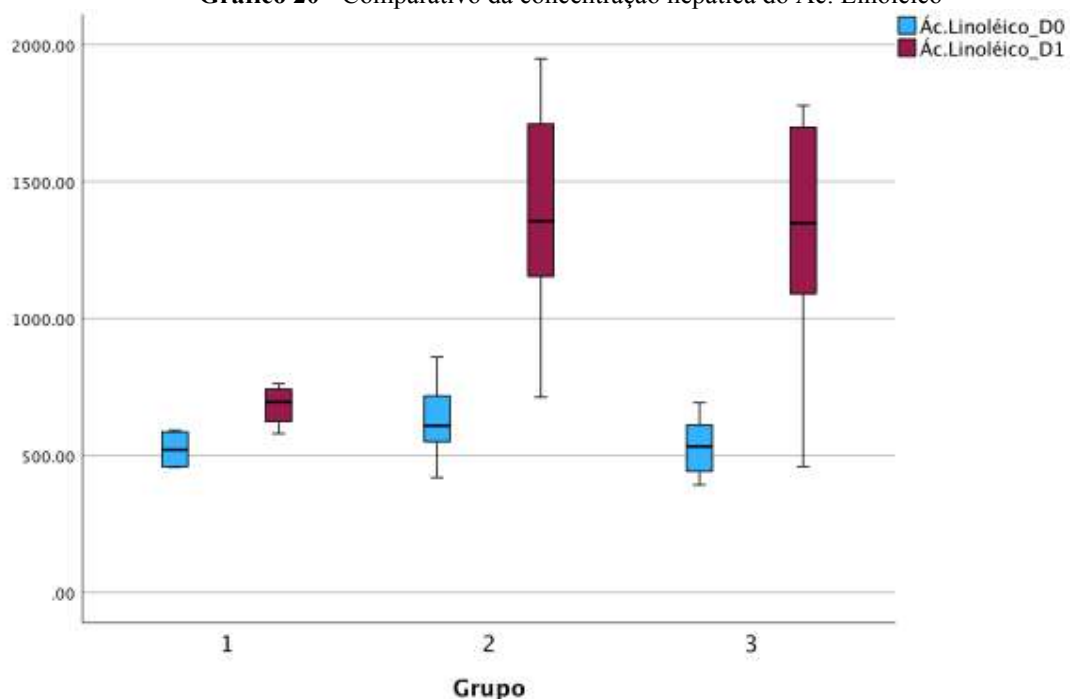
Tabela 10 - Concentração hepática do Ácido Linoleico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	522,57 ($\pm$ 73,34)	628,93 ($\pm$ 143,80)	532,18 ($\pm$ 105,75)
D1	682,88 ($\pm$ 78,91)	1.387,50 ($\pm$ 411,19) ^a	1.313,95 ($\pm$ 441,50) ^a

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

p < 0.05: ^a *versus* D1 do Grupo Sham.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 20 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Linoleico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.2.2 Ácido Gama-Linolênico

No D0, a análise do Ácido Gama-Linolênico revela, como valores mínimos de sua concentração nos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento, os respectivos dados: 2,25; 1,69 e 1,42. Já as máximas foram, respectivamente: 3,43; 7,89 e 6,79. A análise estatística não demonstrou diferença significativa entre os Grupos.

No D1, a concentração do Ácido Gama-Linolênico no tecido hepático dos ratos, apresentou os seguintes valores: Grupo Sham - mínima de 2,47 e máxima de 3,65, Grupo Sem Pré-Condicionamento: mínima de 4,04 e máxima de 27,08 e Grupo Com Pré-

Condicionamento: mínima de 2,10 e máxima de 11,44, havendo diferença significativa na comparação do Grupo Sham com os demais (versus GSPC - $p < 0.01$, EP: 3.623; versus GCPC - $p < 0.05$, EP: 3.623).

Os dados, por grupo, estão expostos na Tabela 11 e Gráfico 21.

Tabela 11 - Concentração hepática do Ácido Gama-Linolênico, por grupo

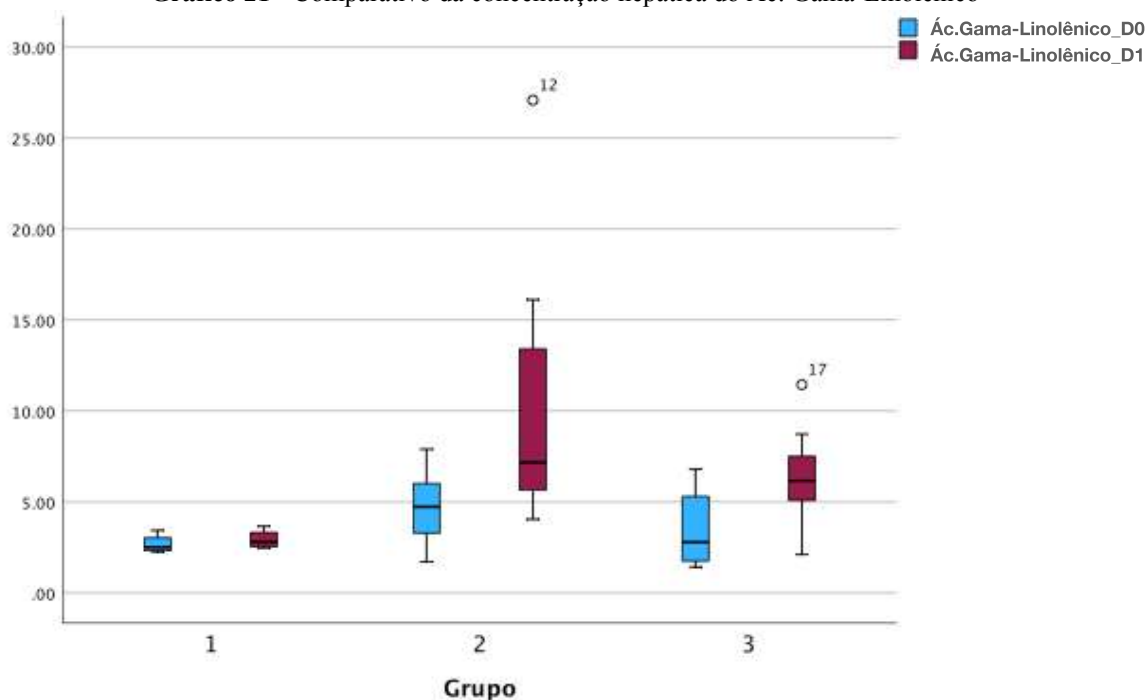
	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	2,67 ($\pm 0,52$)	4,69 ($\pm 2,04$)	3,48 ($\pm 2,08$)
D1	2,92 ($\pm 0,52$)	10,44 ($\pm 7,73$) ^a	6,37 ($\pm 2,74$) ^a

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p < 0.05$: ^a *versus* D1 do Grupo Sham.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 21 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Gama-Linolênico



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.2.3 Ácido Dihomo-Gama-Linolênico

O intervalo de valores de Ácido Dihomo-Gama-Linolênico obtidos no D0 nos Grupos Sham, Sem Pré-Condicionamento e Com Pré-Condicionamento foram, nesta ordem: 9,69 - 17,05; 15,04 - 26,58 e 7,28 - 16,22, com significância estatística entre o Grupo Sem Pré-Condicionamento e os demais Grupos (versus GS - $p < 0.04$, EP: 3.623; versus GCPC - $p < 0.01$, EP: 2.958).

Já no D1, estes dígitos variaram entre: 15,29 - 22,25; 14,17 - 36,89 e 2,20 - 20,31, considerando a mesma ordem do parágrafo anterior e houve significância apenas entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento ($p < 0.01$, EP: 2.958). A síntese destas informações, bem como os valores de média e erro padrão, por grupo, encontram-se na Tabela 12 e no Gráfico 22, a seguir.

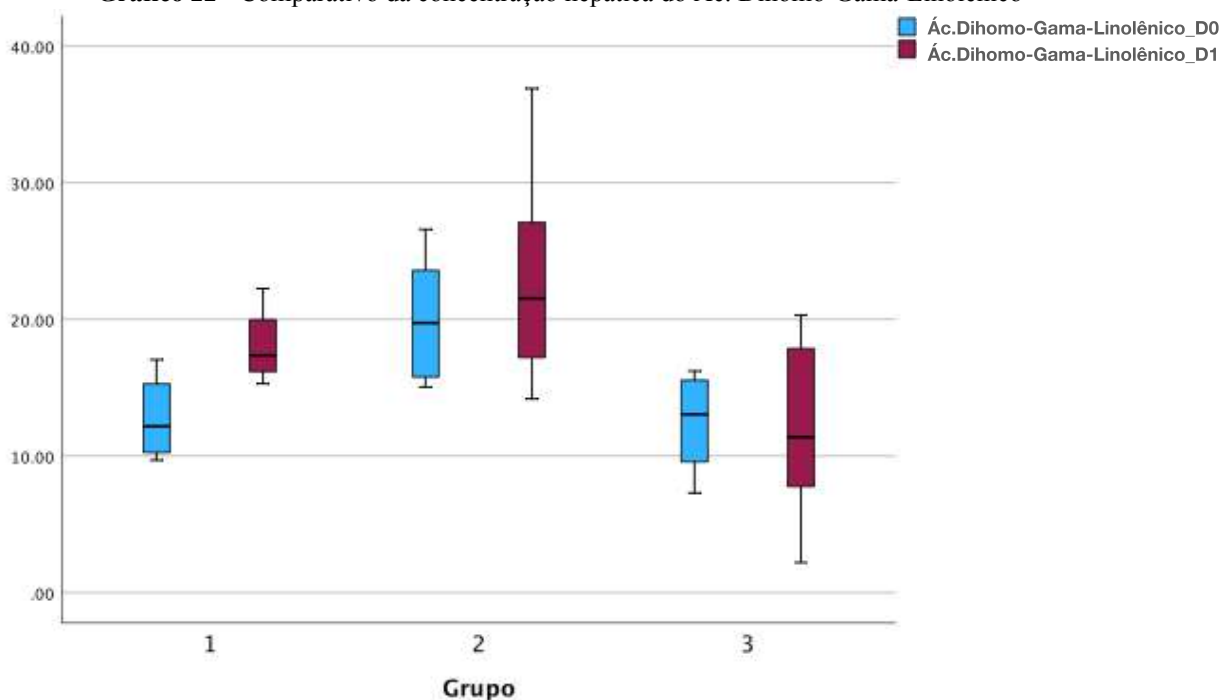
Tabela 12 - Concentração hepática do Ácido Dihomo-Gama-Linolênico, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	12,76 ($\pm 3,27$)	19,97 ($\pm 4,49$) ^a	12,47 ($\pm 3,32$)
D1	18,06 ($\pm 2,96$)	22,83 ($\pm 7,83$) ^b	12,06 ($\pm 6,39$)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p < 0.05$: ^a *versus* D0 dos Grupos Sham e Com Pré-Condicionamento, ^b *versus* D1 do Grupo Com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 22 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Dihomo-Gama-Linolênico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.2.4 Ácido Araquidônico

No D0 do experimento as concentrações, mínima e máxima, obtidas no Grupo Sham, para o Ácido Araquidônico, foram 699,51 e 835,47, respectivamente. Já no Grupo Sem Pré-Condicionamento, variaram entre 314,38 e 1058,58, enquanto que no Grupo Com Pré-Condicionamento os valores ficaram compreendidos entre 181,66 e 593,42. Houve diferença estatisticamente significativa entre o Grupo Com Pré-Condicionamento e o Grupo Sham ($p < 0.03$, EP: 3.623) e o Grupo Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.01$, EP: 2.958), mas não entre estes dois últimos.

No D1, houve um decréscimo na quantidade de Ácido Araquidônico no Grupo Com Pré-Condicionamento (mínima: 135,18 / máxima: 483,27) enquanto que nos demais Grupos houve pouca alteração (Grupo Sham - mínima: 701,92 / máxima: 822,91 ; Grupo Sem Pré-Condicionamento - mínima: 345,41 / máxima: 1204,80). Estes dados, quando analisados demonstraram manutenção da relevância na comparação entre o Grupo Com Pré-Condicionamento e os Grupos Sham ($p < 0.01$, EP: 3.623) e Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.01$, EP: 2.958).

0.02, EP: 2.958), que permaneceram sem diferença significativa entre eles (Tabela 13 e Gráfico 23).

Tabela 13 - Concentração hepática do Ácido Araquidônico, por grupo

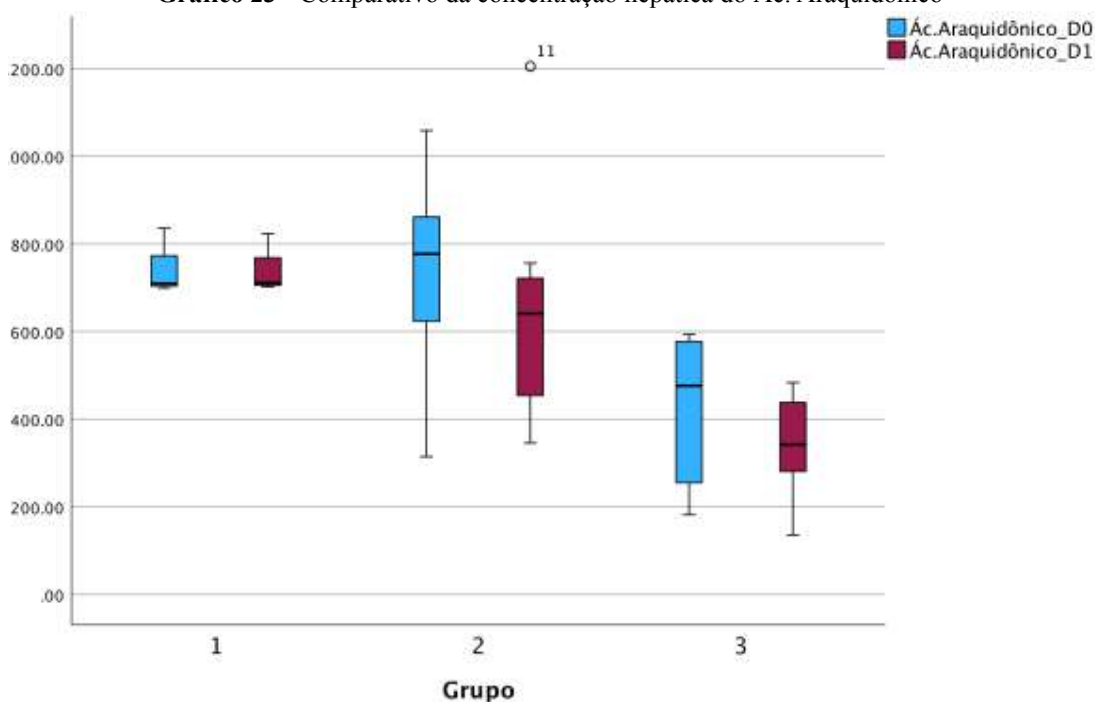
	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Pré-Condicionamento (n=8)
D0	738,33 ($\pm$ 64,91)	736,92 ($\pm$ 232,36)	423,92 ($\pm$ 169,64) ^a
D1	736,65 ($\pm$ 57,69)	647,86 ($\pm$ 265,93)	342,39 ($\pm$ 115,44) ^b

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p < 0.05$: ^a *versus* D0 dos Grupos Sham e Sem Pré-Condicionamento, ^b *versus* D1 dos Grupos Sham e Sem Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 23 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Araquidônico



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.3.2.5 Ácido Docosapentaenóico n-6

Por fim, o último ácido graxo analisado demonstrou no D0 do experimento, a seguinte flutuação dos valores de concentração: no Grupo Sham: 4,12 a 7,85; Grupo Sem Pré-

Condicionamento: 3,73 a 9,47 e, Grupo Com Pré-Condicionamento: 3,65 a 10,80, sem diferença estatística entre os grupos.

No D1, os intervalos de valores ficaram da seguinte forma: Grupo Sham: 7,11 a 17,69; Grupo Sem Pré-Condicionamento: 6,99 a 42,56 e, Grupo Com Pré-Condicionamento: 5,20 a 11,20, também sem diferença estatística entre os grupos, conforme podemos visualizar na Tabela 14 e Gráfico 24, a seguir.

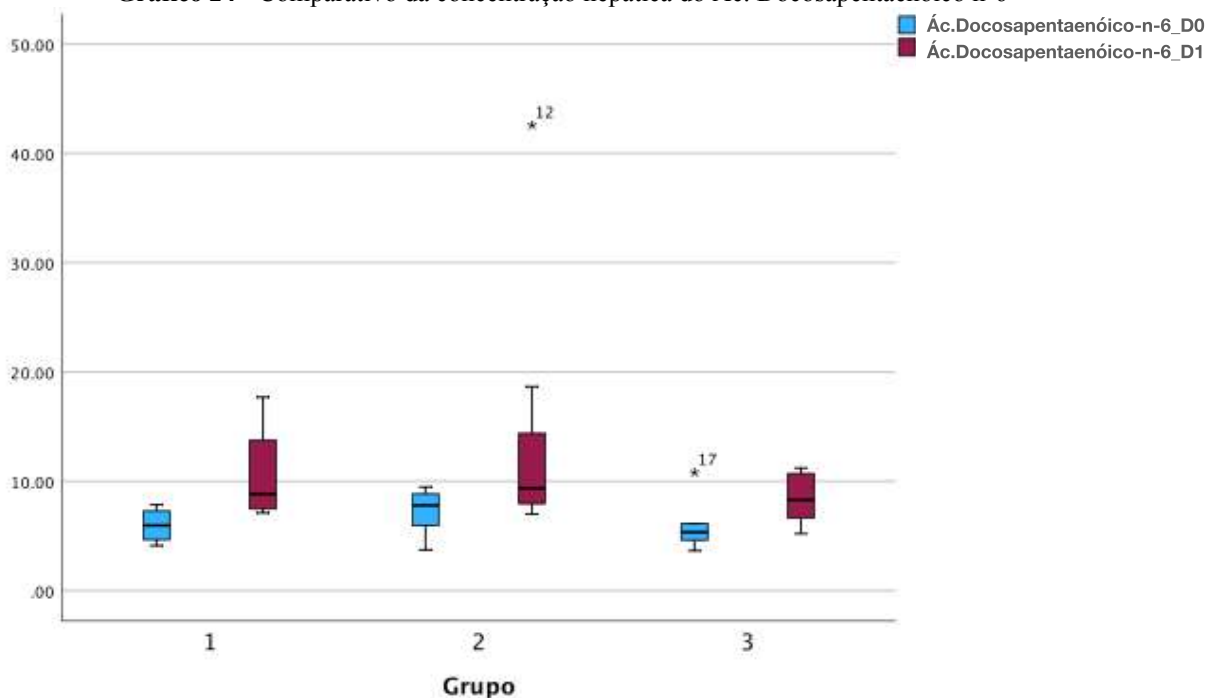
Tabela 14 - Concentração hepática do Ác. Docosapentaenóico n-6, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Pré-Condicionamento (n=8)
D0	5,97 ($\pm$ 1,64)	7,29 ($\pm$ 2,01)	5,82 ($\pm$ 2,19)
D1	10,61 ($\pm$ 4,85)	14,11 ($\pm$ 12,06)	8,46 ($\pm$ 2,25)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 24 - Comparativo da concentração hepática do Ác. Docosapentaenóico n-6



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.4 Ácidos Graxos Totais

No D0, identificamos, como intervalo de referência da normalidade (Grupo Sham, D0), os valores: mínimo de 2.551,16 e máximo de 3.185,03. Quando submetidos à hepatectomia sem pré-condicionamento, observamos valores entre 2.515,07 e 3.979,68 e, quando o procedimento é precedido pelo condicionamento isquêmico, valores entre 2.359,21 e 3.389,41 são encontrados. A análise não demonstrou diferença significativa em nenhuma comparação.

No D1, encontramos os valores mínimos de 3.016; 3.117 e 2.818 e máximos de 3679; 6489 e 5909 nos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento, respectivamente, fazendo surgir diferença estatística apenas entre o Grupo Sham e o Grupo Sem Pré-Condicionamento ($p < 0.02$, EP: 3.623), conforme se percebe na Tabela 15 e no Gráfico 25, a seguir.

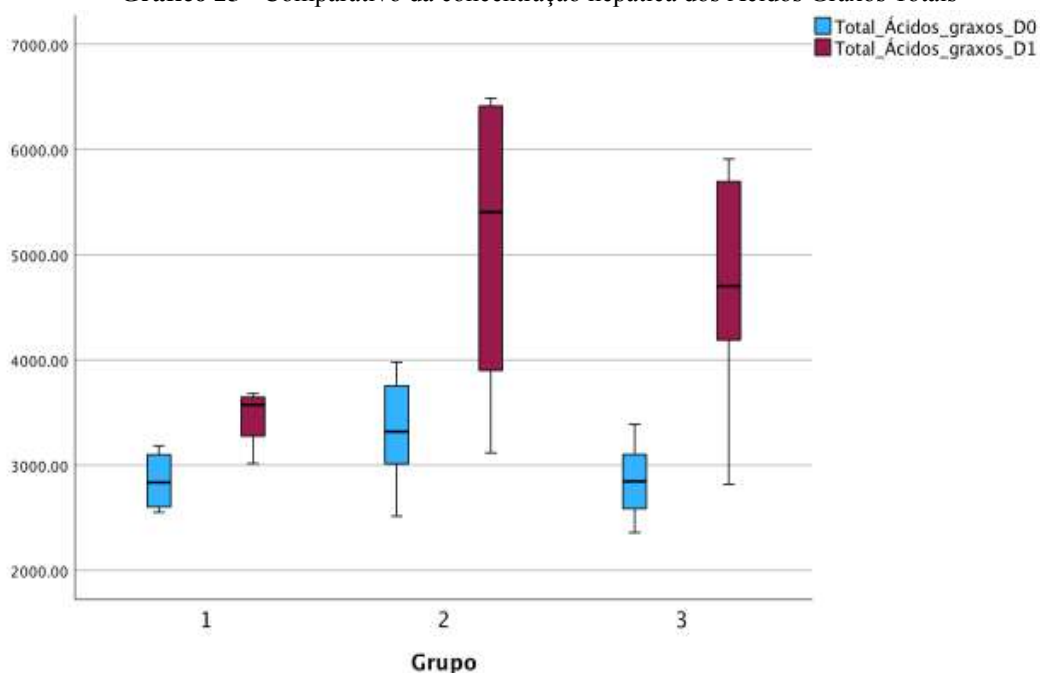
Tabela 15 - Concentração hepática dos Ácidos Graxos Totais, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
D0	2.851,67 ($\pm$ 298,43)	3.333,29 ($\pm$ 498,06)	2.852,01 ($\pm$ 351,90)
D1	3.460,21 ($\pm$ 301,84)	5.129,00 ($\pm$ 1.421,94) ^a	4.737,97 ($\pm$ 1.042,56)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão). $p < 0.05$: ^a *versus* D0 do Grupo Sham.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 25 - Comparativo da concentração hepática dos Ácidos Graxos Totais



Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.5 Síntese dos resultados dos Ácidos Graxos

6.3.5.1 D0 do Experimento

A síntese do conjunto de dados do D0, expresso na Tabela 16, demonstra que, na análise dos ácidos Alfa-Linolênico, Eicosapentaenóico, Linoleico, Gama-Linolênico e Docosapentaenóico n-6 não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os Grupos, ao passo que, para os ácidos Palmítico, Esteárico, Palmitoleico e Oleico, as concentrações foram significativamente mais baixas no Grupo Sham quando comparadas às concentrações destes ácidos nos Grupos Sem Pré-Condicionamento ($p = 0.03$, $p < 0.03$, $p < 0.01$ e $p < 0.02$, respectivamente) e Com Pré-Condicionamento ($p < 0.03$, $p = 0.01$, $p = 0.03$ e $p < 0.01$, respectivamente).

Os ácidos Docosahexaenóico e Araquidônico apresentaram valores mais baixos, com relevância estatística, no Grupo Com Pré-Condicionamento em relação aos Grupos Sham ($p < 0.02$ e $p < 0.03$) e Sem Pré-Condicionamento ($p = 0.01$ e $p < 0.01$).

E, por fim, os níveis do Ácido Dihomo-Gama-Linoleico foram significativamente mais elevados no Grupo Sem Pré-Condicionamento em comparação aos Grupos Sham ($p < 0.04$) e Com Pré-Condicionamento ($p < 0.01$).

Tabela 16 - Síntese dos resultados dos Ácidos Graxos, no D0

	Grupo Sham (n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
Ácido Palmítico	483,79 ($\pm$ 64,28)	600,91 ($\pm$ 70,97) ^a	622,56 ($\pm$ 63,28) ^a
Ácido Esteárico	568,01 ($\pm$ 53,88)	673,14 ($\pm$ 106,00) ^a	677,79 ($\pm$ 54,02) ^a
Ácido Palmitoleico	6,57 ($\pm$ 1,40)	13,80 ($\pm$ 3,03) ^a	11,88 ($\pm$ 3,92) ^a
Ácido Oleico	148,13 ($\pm$ 19,14)	217,75 ($\pm$ 42,01) ^a	222,05 ($\pm$ 55,82) ^a
Ácido Alfa-Linolênico	8,44 ($\pm$ 2,43)	12,20 ($\pm$ 5,77)	9,16 ($\pm$ 4,54)
Ácido Eicosapentaenóico	3,98 ($\pm$ 0,66)	5,02 ($\pm$ 1,62)	3,78 ($\pm$ 1,20)
Ácido Docosahexaenóico	127,17 ($\pm$ 22,44)	128,44 ($\pm$ 46,56)	69,96 ($\pm$ 32,50) ^{a, b}
Ácido Linoleico	522,57 ($\pm$ 73,34)	628,93 ($\pm$ 143,80)	532,18 ($\pm$ 105,75)
Ácido Gama- Linolênico	2,67 ($\pm$ 0,52)	4,69 ($\pm$ 2,04)	3,48 ($\pm$ 2,08)
Ácido Dihomo-Gama- Linolênico	12,76 ($\pm$ 3,27)	19,97 ($\pm$ 4,49) ^a	12,47 ($\pm$ 3,32) ^b
Ácido Araquidônico	738,33 ($\pm$ 64,91)	736,92 ($\pm$ 232,36)	423,92 ($\pm$ 169,64) ^{a, b}
Ácido Docosapentaenóico n-6	5,97 ($\pm$ 1,64)	7,29 ($\pm$ 2,01)	5,82 ($\pm$ 2,19)
Total de Ácidos Graxos	2.851,67 ($\pm$ 298,43)	3.333,29 ($\pm$ 498,06)	2.852,01 ($\pm$ 351,90)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p \leq 0.05$: ^a *versus* aquela variável no Grupo Sham, ^b *versus* aquela variável no Grupo Sem Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.3.5.2 D1 do Experimento

A síntese do conjunto de dados do D1, expressos na Tabela 17, demonstra que os únicos ácidos que não apresentaram diferença significativa na comparação entre os diferentes Grupos, foram o ácidos Esteárico e Docosapentaenóico n-6.

Os Ácidos Palmítico, Palmitoleico, Oleico, Alfa-Linolênico, Linoleico e Gama-Linolênico demonstraram níveis mais altos, com relevância estatística, nos Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento, quando comparados ao Grupo Sham (GSPCxGS - $p < 0.04$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.02$, $p < 0.02$, $p < 0.01$ / GCPSxGS - $p < 0.02$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.04$, $p < 0.04$, $p < 0.05$). O Ácido Eicosapentaenoico exibiu o mesmo comportamento, porém a análise estatística encontrou relevância na comparação do Grupo Sham apenas com o Grupo Sem Pré-Condicionamento ($p < 0,03$).

A observação dos resultados do Ácido Dihomo-Gama-Linoleico revelou, além de valores maiores no Grupo Sem Pré-Condicionamento, concentrações menores no Grupo Com Pré-Condicionamento, gerando relevância estatística na comparação entre estes dois Grupos ($p < 0.01$).

Os dois últimos ácidos avaliados, Docosaheptaenóico e Araquidônico tiveram, ambos, valores decrescentes nos Grupos Sham, Sem e Com Pré-Condicionamento, nesta ordem e, o estudo estatístico demonstrou significância na comparação do Grupo Com Pré-Condicionamento com o Grupo Sham ($p < 0.01$ para os dois ácidos) e entre os Grupos Com e Sem Pré-Condicionamento (DHA $p < 0.01$; AA: $p < 0.02$).

Tabela 17 - Síntese dos resultados dos Ácidos Graxos, no D1

	Grupo Sham (n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Com Pré- Condicionamento (n=8)
Ácido Palmítico	660,10 ($\pm$ 80,89)	1.035,42 ($\pm$ 355,90) ^a	1.092,60 ($\pm$ 199,99) ^a
Ácido Esteárico	718,63 ($\pm$ 80,39)	681,96 ($\pm$ 207,04)	756,24 ($\pm$ 153,57)
Ácido Palmitoleico	14,57 ($\pm$ 6,09)	58,59 ($\pm$ 38,57) ^a	41,07 ($\pm$ 27,68) ^a
Ácido Oleico	196,69 ($\pm$ 45,97)	718,75 ($\pm$ 393,12) ^a	709,20 ($\pm$ 237,25) ^a
Ácido Alfa-Linolênico	15,77 ($\pm$ 5,91)	60,01 ($\pm$ 24,76) ^a	46,32 ($\pm$ 23,63) ^a
Ácido Eicosapentaenóico	6,01 ($\pm$ 2,08)	11,40 ($\pm$ 4,64) ^a	8,93 ($\pm$ 3,34)
Ácido Docosahexaenóico	155,45 ($\pm$ 16,76)	115,32 ($\pm$ 53,67)	52,36 ($\pm$ 23,14) ^{a, b}
Ácido Linoleico	682,88 ($\pm$ 78,91)	1.387,50 ($\pm$ 411,19) ^a	1.313,95 ($\pm$ 441,50) ^a
Ácido Gama- Linolênico	2,92 ($\pm$ 0,52)	10,44 ($\pm$ 7,73) ^a	6,37 ($\pm$ 2,74) ^a
Ácido Dihomo-Gama- Linolênico	18,06 ($\pm$ 2,96)	22,83 ($\pm$ 7,83)	12,06 ($\pm$ 6,39) ^b
Ácido Araquidônico	736,65 ($\pm$ 57,69)	647,86 ($\pm$ 265,93)	342,39 ($\pm$ 115,44) ^{a, b}
Ácido Docosapentaenóico n-6	10,61 ($\pm$ 4,85)	14,11 ($\pm$ 12,06)	8,46 ($\pm$ 2,25)
Total de Ácidos Graxos	3.460,21 ($\pm$ 301,84)	5.129,00 ($\pm$ 1.421,94) ^a	4.737,97 ($\pm$ 1.042,56)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

p < 0.05: ^a *versus* aquela variável no Grupo Sham, ^b *versus* aquela variável no Grupo Sem Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.4 ATIVIDADE DAS ENZIMAS DO METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Conforme mencionado anteriormente, modelos de mensuração da atividade enzimática de Δ -5 e -6 dessaturase, através da relação produto/precursor dos ácidos graxos poliinsaturados da série ômega-6, já foram propostos e validados. Utilizamos a razão Ácido Araquidônico/Ácido Dihomo-Gama Linolênico e a razão Ácido Gama-Linolênico/Ácido Linoleico para mensurar a atividade de Δ -5 e Δ -6 dessaturase, respectivamente (136, 137). Por analogia, mensuramos a atividade de SCD-1 calculando a razão Ácido Palmitoleico/Ácido Palmítico e Ácido Oleico/Ácido Estéarico.

6.4.1 Δ -5 Dessaturase

No D0, os valores obtidos na equação Ácido Araquidônico/Ácido Dihomo-Gama-Linolênico variaram entre 41,56 e 73,29 no Grupo Sham, 20,65 e 64,79 no Grupo Sem Pré-Condicionamento e 18,67 e 61,75 no Grupo Com Pré-Condicionamento. A análise comparativa revelou diminuição significativa da atividade estimada da enzima nos Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento em comparação ao Grupo Sham (versus GSPC - $p = 0.03$, EP: 3.623; versus GCPC - $p < 0.02$, EP: 3.623) contudo, sem diferença estatística entre eles.

No D1, os Grupos Sham, Sem Pré-Condicionamento e Com Pré-Condicionamento apresentaram taxas mínimas de atividade enzimática de 36,98; 15,37 e 18,76 e taxas máximas de 46,64; 69,91 e 168,17, respectivamente, com análises comparativas iguais às do D0 (GSxGSPC - $p < 0.04$, EP: 3.623; GSxGCPC - $p < 0.05$, EP: 3.623).

Dados sobre média e erro padrão, estão dispostos na Tabela 18 e Gráfico 26, a seguir.

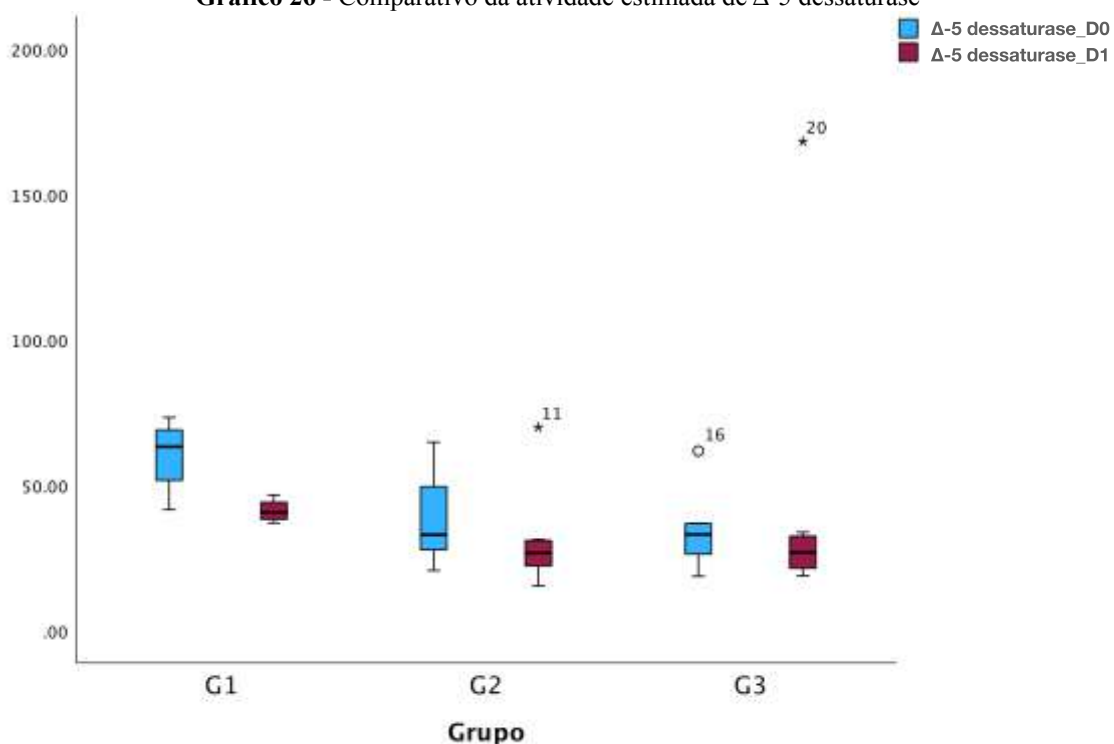
Tabela 18 - Estimativa da atividade de Δ -5 Dessaturase, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Pré-Condicionamento (n=8)
D0	60,32 ($\pm$ 13,42)	38,24 ($\pm$ 15,99) ^a	34,09 ($\pm$ 12,99) ^a
D1	41,23 ($\pm$ 4,06)	30,63 ($\pm$ 16,75) ^b	43,55 ($\pm$ 50,64) ^b

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

$p < 0.05$: ^a versus D0 no GS, ^b versus D1 no GS.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 26 - Comparativo da atividade estimada de Δ -5 dessaturase

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.4.2 Δ -6 Dessaturase

Encontramos, na relação Ácido Gama-Linolênico/Ácido Linoleico, os seguintes dados, referentes às taxas mínimas de conversão, no D0 dos Grupos Sham, Sem Pré-Condicionamento e Com Pré-Condicionamento: 0,0045; 0,0040 e 0,0030. As taxas máximas, respeitando a mesma ordem, foram: 0,0057; 0,0099 e 0,0105. A análise comparativa não produziu significância em nenhuma das comparações.

Em D1, as variações do Grupo Sham foram de 0,0036 a 0,0047, do Grupo Sem Pré-Condicionamento foram de 0,0039 a 0,0190 e do Grupo Com Pré-Condicionamento foram de 0,0029 a 0,0076. Houve diferença estatística apenas de aumento de atividade no Grupo Sem Pré-Condicionamento em relação ao Grupo Sham ($p = 0,05$; EP: 3.623).

Na Tabela 19 e Gráfico 27, a seguir, estão compiladas as informações supracitadas.

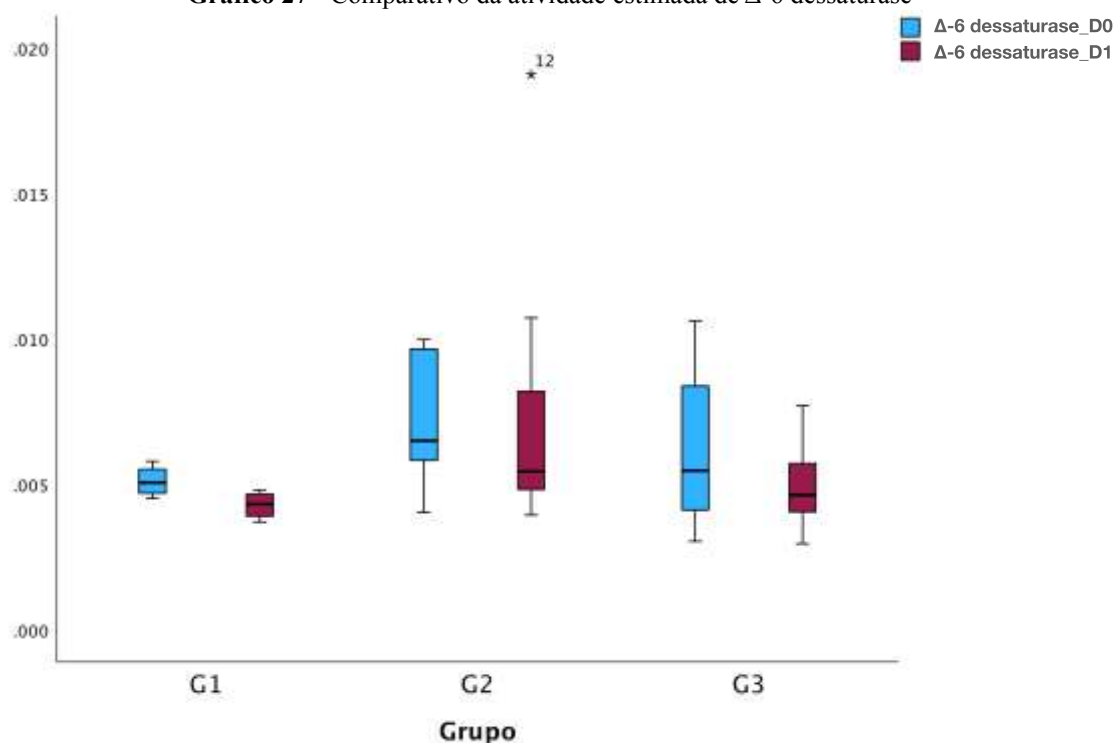
Tabela 19 - Estimativa da atividade de Δ -6 Dessaturase, por grupo

	Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré- Condicionamento (n=8)	Grupo Pré-Condicionamento (n=8)
D0	0,0051 ($\pm$ 0,0005)	0,0072 ($\pm$ 0,0022)	0,0061 ($\pm$ 0,0027)
D1	0,0042 ($\pm$ 0,0004)	0,0074 ($\pm$ 0,0051) ^a	0,0049 ($\pm$ 0,0015)

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

p < 0.05: ^a *versus* aquela variável no Grupo Sham.

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 27 - Comparativo da atividade estimada de Δ -6 dessaturase

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

6.4.3 Estearoil Coenzima A Dessaturase 1 - SCD-1

Apresentamos dois valores de mensuração da atividade de SCD-1: aquele resultante da relação Ácido Palmitoleico/Ácido Palmítico, que no D0 teve flutuações entre 0,012 e 0,015 no Grupo Sham, 0,017 e 0,029 no Grupo Sem Pré-Condicionamento e 0,011 e 0,026 no Grupo Com Pré-Condicionamento e, aquele resultante da relação Ácido Oleico/Ácido Esteárico que também no D0 demonstrou variação entre 0,24 e 0,27 no Grupo Sham, 0,21 e 0,43 no Grupo

Sem Pré-Condicionamento e 0,24 e 0,45 no Grupo Com Pré-Condicionamento. A análise comparativa da atividade de SCD-1 não demonstrou diferença significativamente estatística para a conversão de Ácido Esteárico em Oleico e, para a conversão de Ácido Palmítico para Palmitoleico, demonstrou relevância apenas entre os Grupo Sem Pré-Condicionamento e Sham ($p < 0.01$; EP: 3.623).

Vinte e quatro horas após as intervenções, os intervalos da relação Ácido Palmitoleico/Ácido Palmítico ficaram em 0,013 e 0,029 no Grupo Sham, 0,028 e 0,090 no Grupo Sem Pré-Condicionamento e 0,015 e 0,075 no Grupo Com Pré-Condicionamento e, da relação Ácido Oleico/Ácido Esteárico, variaram entre 0,20 e 0,34 no Grupo Sham, 0,54 e 2,46 no Grupo Sem Pré-Condicionamento e 0,29 e 1,75 no Grupo Com Pré-Condicionamento. Surgiu diferença estatística entre os Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento com o Grupo Sham para a enzima SCD-1 Ácido Oleico/Ácido Esteárico (GSxGSPC - $p < 0.01$; EP: 3.623 / GSxGCPC - $p < 0.01$; EP: 3.623) e manteve-se a diferença, apenas entre o Grupo Sem Pré-Condicionamento e o Grupo Sham, para a enzima SCD-1 Ácido Palmitoleico/Ácido Palmítico ($p = 0.02$; EP: 3.623), conforme exibidos na Tabela 20 e Gráficos 28 e 29, adiante.

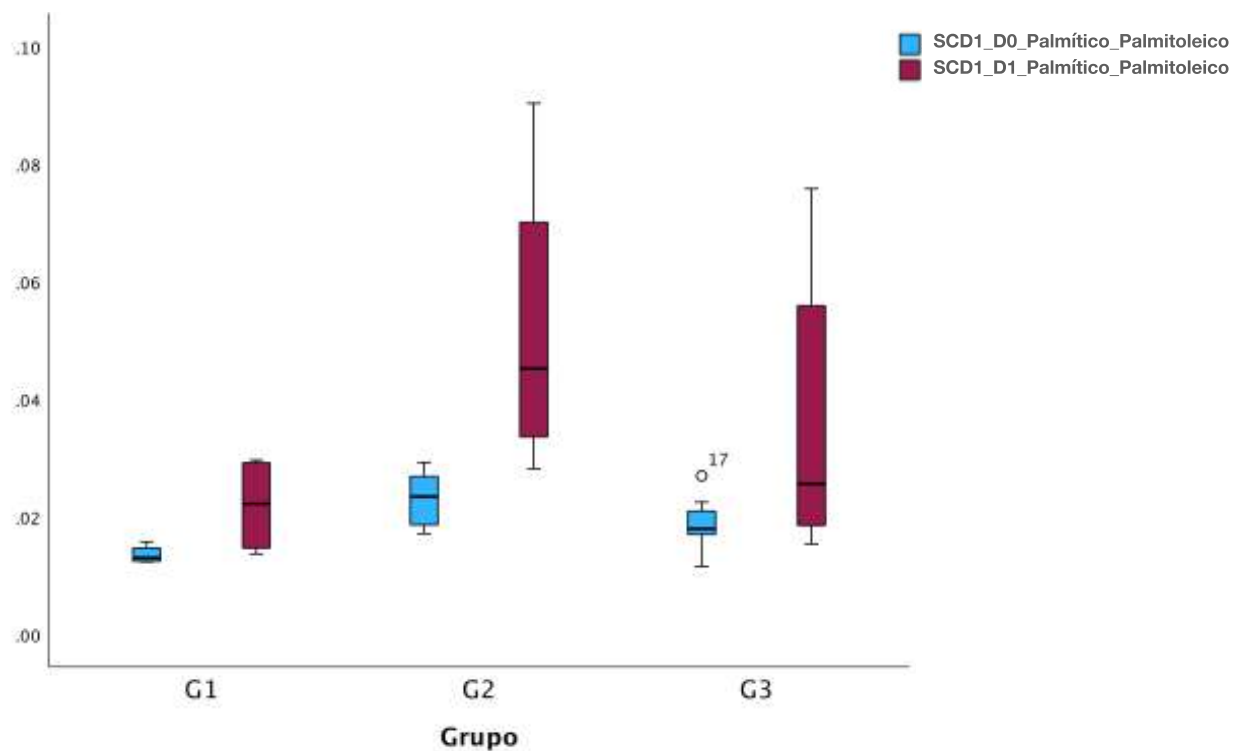
Tabela 20 - Estimativa da atividade de SCD-1, por grupo

		Grupo Sham (D0 n=4 / D1 n=4)	Grupo Sem Pré-Condicionamento (n=8)	Grupo Pré-Condicionamento (n=8)
D0	Ác. Palmitoleico/ Ác. Palmítico	0,013 ($\pm 0,001$)	0,022 ($\pm 0,004$) ^a	0,018 ($\pm 0,004$)
	Ác. Oleico/ Ác. Esteárico	0,26 ($\pm 0,013$)	0,33 ($\pm 0,082$)	0,32 ($\pm 0,076$)
D1	Ác. Palmitoleico/ Ác. Palmítico	0,021 ($\pm 0,008$)	0,052 ($\pm 0,022$) ^a	0,036 ($\pm 0,022$)
	Ác. Oleico/ Ác. Esteárico	0,27 ($\pm 0,058$)	1,08 ($\pm 0,643$) ^a	0,99 ($\pm 0,467$) ^a

Dados expressos em média ($\pm$ erro padrão).

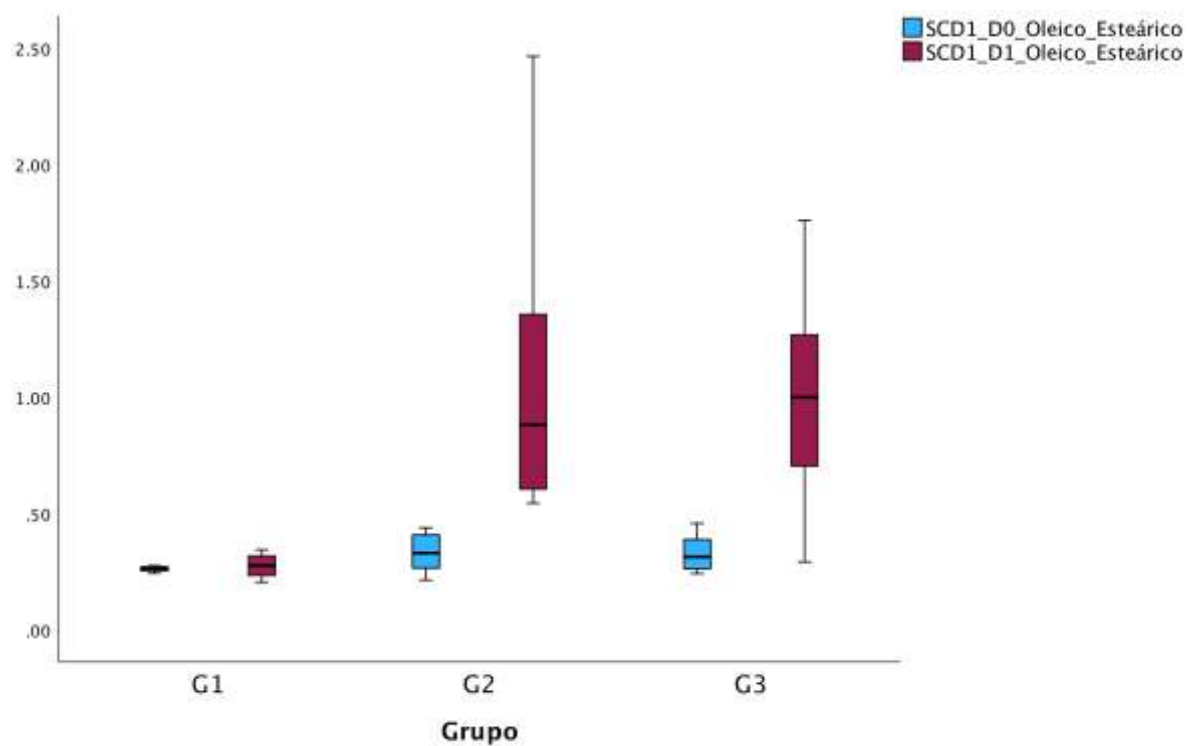
$p < 0.05$: ^a versus aquela variável, naquele dia, no Grupo Sham. .

Fonte: Elaboração própria.

Gráfico 28 - Comparativo da atividade estimada de SCD-1 sobre o Ácido Palmítico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria

Gráfico 29 - Comparativo da atividade estimada de SCD-1 sobre o Ácido Esteárico

Grupo 1 - Grupo Sham, Grupo 2 - Grupo Sem Pré-Condicionamento, Grupo 3 - Grupo com Pré-Condicionamento.

Fonte: Elaboração própria.

7 DISCUSSÃO

A injúria hepática induzida por isquemia e reperfusão (I/R) é um fenômeno complexo que envolve múltiplos mecanismos celulares e moleculares, resultando em danos teciduais significativos e podendo culminar em insuficiência hepática pós-operatória irreversível e óbito. Nesse contexto, o pré-condicionamento isquêmico (PCI) tem sido investigado como uma estratégia potencialmente eficaz para mitigar os efeitos adversos da lesão por I/R. Este estudo avaliou a influência da isquemia e do pré-condicionamento isquêmico na concentração hepática de diversos ácidos graxos, fornecendo informações valiosas sobre as alterações metabólicas associadas a estes processos.

A análise bioquímica das enzimas hepáticas demonstrou que, 24 horas após a intervenção, houve uma redução, estatisticamente significativa, dos níveis de AST no grupo dos animais submetidos ao pré-condicionamento isquêmico do fígado, em comparação ao grupo dos animais não pré-condicionados. Este nosso resultado está em concordância com dados previamente descritos na literatura (138-141), o que valida nosso modelo experimental além de reforçar a hipótese de que o pré-condicionamento isquêmico do fígado exerce, de fato, um efeito protetor ao órgão.

De igual modo, nossas análises histológicas demonstraram que inserir um breve momento de isquemia, seguido de um curto tempo de reperfusão, antes do período prolongado de isquemia, necessário para o ato cirúrgico principal, não causa mais necrose hepatocitária, esteatose, congestão sinusoidal ou aumento do quantitativo de células de Kupffer hemofagocitando, nem de maneira imediata, nem 24 horas após o experimento, mostrando que esta injúria por isquemia e reperfusão intencional, controlada e orquestrada não produz malefícios teciduais ao fígado (142-145). O único parâmetro presente de modo significativamente mais intenso no grupo dos animais pré-condicionados, em comparação ao grupo dos animais não pré-condicionados, é o infiltrado neutrofílico (apenas no D1). Uma vez que a presença destas células é descrita como favorecedora da regeneração hepática (146), interpretamos este dado como algo positivo e condizente com o fato de termos encontrado figuras de mitose somente naquele primeiro grupo.

Iniciando a discussão da análise das concentrações hepáticas dos ácidos graxos, é pertinente dizer que não encontramos na literatura valores de referência padronizados. Isto

provavelmente porque a composição lipídica do fígado é muito dinâmica, facilmente modificável por fatores como dieta, características do acondicionamento dos animais e presença de infecções/inflamações subjacentes, por vezes não percebidas pelo pesquisador. Além disto, as particularidades genéticas dos diferentes animais utilizados em pesquisa, a modificação etária nas proporções dos ácidos graxos livres e as muitas possibilidades de métodos de dosagem dos ácidos graxos (cromatografia líquida, gasosa, com ou sem espectrometria) e do material através do qual tem sido avaliada a atividade enzimática (cérebro, rim, plasma), dificultam o estabelecimento de valores de referência. Do mesmo modo, sobre atividade enzimática, os únicos dados encontrados revelam que a SCD-1 transforma, respectivamente, cerca de 85% do Ácido Esteárico e 51% do Ácido Palmítico em Ácidos Oleico e Palmitoleico (147) e que a atividade das enzimas Δ -5 e Δ -6 Dessaturase, gira em torno de 5% e 0,5 % nas conversões do Ácido Alfa-Linolênico em EPA e deste em DHA, respectivamente (148). Consideramos essa crítica pertinente, uma vez que há um número crescente de trabalhos apontando a importância da atividade destas enzimas na correlação com a síndrome metabólica (149), a pré-eclâmpsia (150), as doenças neurodegenerativas (151), sugerindo, inclusive, o uso destes biomarcadores como preditores (152).

Portanto, para discutir a concentração hepática dos ácidos graxos e da atividade das enzimas envolvidas na metabolização destes ácidos utilizamos, semelhante a estudos prévios (153-155), os dados do Grupo Sham como referencial da normalidade e encontramos as informações descritas a seguir.

No Grupo Sem Pré-Condicionamento ocorre, no D0, 1) o aumento de todos os ácidos saturados e monoinsaturados, 2) o aumento do Ácido Dihomo-Gama-Linolênico (relevante também na comparação com o Grupo Com Pré-Condicionamento), além da 3) diminuição da atividade da Δ -5 Dessaturase e do 4) aumento significativo da atividade enzimática de SCD-1 sobre o Ácido Palmítico, embora não sobre o Ácido Esteárico. Já no D1, observamos que 1) houve aumento significativo da concentração total dos ácidos graxos, 2) os ácidos Palmítico, Palmitoleico e Oleico mantiveram-se significativamente mais altos, 3) o Ácido Esteárico, devido à constância dos seus níveis no Grupo Sem Pré-Condicionamento e seu aumento no Grupo Sham, deixou de ter diferença significativa entre estes dois grupos, 4) houve aumento significativo da atividade de SCD-1 sobre o Ácido Esteárico (justificando a estabilidade exibida em suas concentrações) e 5) manteve-se a elevada atividade de SCD-1 sobre o Ácido

Palmítico (conforme observado no D0). Quanto aos ácidos ômega-3 e -6, notamos 1) concentrações significativamente mais altas somente dos dois primeiros ácidos de cada via (ácidos Alfa-Linolênico, Eicosapentaenóico, Linoleico e Gama-Linoleico), coincidindo com 2) o surgimento de uma elevação significativa da Δ -6 Dessaturase e 3) a manutenção da relevante redução da atividade da Δ -5 Dessaturase (presente também no D0).

No Grupo Com Pré-Condicionamento observamos no D0 1) também um aumento dos ácidos saturados e monoinsaturados além de 2) uma diminuição significativa dos ácidos Araquidônico e Docosaheptaenóico. No D1, o Grupo Com Pré-Condicionamento exibe o mesmo comportamento observado no D1 do Grupo Sem Pré-Condicionamento quanto 1) aos ácidos saturados e monoinsaturados (inclusive o Ácido Esteárico), 2) à atividade de SCD-1 sobre o Ácido Esteárico e quanto 3) ao primeiro ácido da série ômega-3 (Ácido Alfa-Linolênico) e aos dois primeiros ácidos da série ômega-6 (ácidos Linoleico e Gama-Linoleico). Exclusivo deste grupo, no D1, foi 1) a persistência da diminuição significativa dos ácidos Araquidônico e Docosaheptaenóico.

A despeito da razão Ácido Araquidônico/Ácido Dihomo-Gama-Linolênico ter sido significativamente menor no Grupo Com Pré-Condicionamento do que no Grupo Sham, tanto no D0 quanto no D1, acreditamos que isto não reflete uma alteração enzimática, mas sim um maior consumo do Ácido Araquidônico, uma vez que não houve acúmulo de seu precursor e nem redução de seu produto. Explicaremos esta afirmação mais adiante.

O Quadro 4, a seguir, ilustra a síntese destas alterações.

Quadro 4 - Síntese das alterações dos grupos Sem e Com Pré-Condicionamento em comparação ao Grupo Sham

	D0		D1	
	Grupo Sem Pré-Condicionamento	Grupo Com Pré-Condicionamento	Grupo Sem Pré-Condicionamento	Grupo Com Pré-Condicionamento
Ácidos Graxos	↑ Ácidos Saturados e Monoinsaturados ↑ DGLA	↑ Ácidos Saturados e Monoinsaturados ↓ DHA e AA	↑ Ác. Graxos Totais ↑ Ácidos Saturados e Monoinsaturados (exceto Ác. Esteárico) ↑ ALA, LA, GLA, EPA	↑ Ácidos Saturados e Monoinsaturados (exceto Ác. Esteárico) ↑ ALA, LA, GLA ↓ DHA e AA
Enzimas	↑ SCD-1 sobre o Ác. Palmítico ↓ Δ -5 Dessaturase	-	↑ SCD-1 (sobre o Ác. Palmítico e Esteárico) ↑ Δ -6 Dessaturase ↓ Δ -5 Dessaturase	↑ SCD-1 sobre o Ác. Esteárico

Fonte: Elaboração própria.

Em situações de isquemia, as mitocôndrias deixam de realizar a β -oxidação dos ácidos graxos para a geração de energia (78). A baixa concentração de oxigênio também leva à ativação dos HIF (52), que induzem a expressão do CD36, o principal impulsionador da captação de ácidos graxos (53). Além disto, durante o processo de I/R, o aumento da concentração de cálcio no interior das células, em virtude do mau funcionamento dos canais dependentes de ATP, causa a ativação de fosfolipases, especialmente da cPLA2, que promove a liberação de ácidos graxos a partir dos fosfolipídios de membrana (51). Na reperfusão, o estresse oxidativo contribui para a inibição AMPK (67). Esta inibição causa regulação positiva da lipogênese e negativa dos fatores de oxidação dos ácidos graxos. Estes eventos, em conjunto, favorecem o acúmulo de ácidos graxos nas células do fígado, tendo ocorrido tal alteração também em nosso modelo experimental, no D1. As alterações de aumento imediato dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados, surgimento da elevação dos ácidos graxos totais e dos ácidos Linoleico, Alfa e Gama Linolênico e a manutenção da elevação dos ácidos Palmítico, Palmitoleico e Oleico, encontradas em nosso trabalho, condizem com esta sequência consolidada na literatura e nos fazem inferir que, uma vez que estas alterações estão presentes nos dois grupos, elas dizem respeito às alterações ocorridas por conta da injúria por isquemia e reperfusão. Artigos como o de Feng *et al.* (156), que demonstram o acúmulo de diversos ácidos graxos após o infarto do miocárdio seguido de revascularização e o consenso da comunidade científica que afirma através de diversos estudos (157-159) que o dano celular na injúria por isquemia e reperfusão é decorrente do acúmulo lipídico e da lipotoxicidade, fortalecem nossas suposições. De igual modo, são alterações típicas da injúria por isquemia e reperfusão a produção acentuada de EROs e de citocinas pró-inflamatórias, particularmente, IL-1 β , IL-6, TNF α (160). Interessantemente, Gan e cols (161) comprovaram, recentemente, que a superexpressão de SCD-1 regula positivamente a secreção destas mesmas citocinas. Estes dados corroboram com a hipótese de que estes nossos achados, por estarem presentes nos dois grupos e serem coincidentes com os mecanismos da lesão por isquemia e reperfusão descritos na literatura, representam este tipo de lesão.

Adicionalmente, se analisarmos as principais diferenças entre as alterações demonstradas pelos Grupos Sem e Com Pré-Condicionamento, na comparação com nosso referencial (Grupo Sham), percebemos que as que ocorrem, exclusivamente, no primeiro

grupo também se associam à injúria por isquemia e reperfusão 1) a maior concentração do Ácido Eicosapentaenóico, no D1, que, em última instância, significa acúmulo de ácidos graxos, 2) a expressiva redução na atividade de Δ -5 Dessaturase, no D0 e no D1, que se relaciona com a inflamação do fígado, com a promoção da ativação clássica do perfil macrofágico M1, com a supressão de programas alternativos de ativação do M2 (162) e com a geração de EROs (163), 3) a elevação da atividade da enzima Δ -6 Dessaturase, no D1, que se associa ao aumento da agregação planetária e formação de trombos (164) e 4) o incremento na atividade da enzima SCD-1 sobre o Ácido Palmítico, tanto no D0 quanto no D1 que, conforme mencionado previamente, promove o mesmo efeito de liberação de citocinas inflamatórias visto na lesão por isquemia e reperfusão. Salientamos que, em sendo alterações com repercussão negativa, só o fato de não ocorrerem no Grupo Com Pré-Condicionamento, já demonstra uma possível vantagem no emprego desta estratégia.

A única alteração exclusiva do Grupo Com Pré-Condicionamento e portanto, teoricamente, associada ao pré-condicionamento, é a dosagem reduzida dos ácidos Araquidônico e Docosaheptaenóico, tanto no D0 como no D1.

Estudos sobre lipidômica no contexto de inflamações crônicas, diabetes mellitus (165), obesidade (166), síndrome metabólica (167) e câncer (168) relacionam maiores concentrações de DHA a melhores resultados clínicos. Entretanto, em isquemia e reperfusão, há um claro entendimento de que os efeitos exercidos pelos ácidos graxos não são praticados, somente pelo próprio ácido, demandando altas concentrações do mesmo mas, principalmente, pelos seus metabólitos oxidados (tanto por via enzimática quanto não enzimática) (169, 170).

Pela via LOX o DHA é metabolizado em diversos produtos, dentre eles, as mais estudadas, as Maresinas. Este metabólito do DHA oxidado promove a ativação dos PPAR- α , o que aumenta a expressão de CPT-I (enzima limitante da taxa de beta-oxidação) e de ACOX, favorecendo a β -oxidação dos ácidos graxos, com consequente diminuição da peroxidação lipídica e da lesão hepática por isquemia/reperfusão (171). Além de efeitos na injúria propriamente dita, o aumento da β -oxidação dos ácidos graxos leva à maior produção de ATP e, portanto, facilita a regeneração hepática (172). A ativação do PPAR- α pela Maresina atua, também, inibindo a ativação do NF- κ B, um fator de transcrição de citocinas pró-inflamatórias (173).

Outros efeitos, relacionados à Maresina, incluem: o aumento da glutathione peroxidase (GPx, *glutathione peroxidase*) e a redução da caspase-3, das interleucinas inflamatórias 6 e 1 β e do malondialdeído (MDA, *malondialdehyde*) (174), o produto da peroxidação lipídica (175). Através de sua ligação a algum receptor acoplado à proteína G (GPCR, *G-protein-coupled-receptors*), por exemplo, o receptor de lipoxina A4 (ALXR, *lipoxin A4 receptor*), ainda que este não seja seu receptor principal, a Maresina ativa a via de sinalização Fosfatidilinositol-3 Quinase/Proteína-B quinase (PI3K/AKT, *phosphatidylinositol-3 kinase/protein-kinase B*) que promove a polarização dos macrófagos para o subtipo M2 (176), inibe a secreção do NF- κ B, estimula a produção de eNOS e diminui a apoptose, ao regular a produção da proteína linfoma de células B 2 (Bcl-2, *B-Cell Lymphoma 2*) - anti-apoptótica - e das caspases (proteínas pró-apoptóticas) (177). Todos estes achados fazem com que a Maresina seja considerada, atualmente, uma potencial ferramenta para o tratamento da injúria por isquemia e reperfusão (178).

Já a peroxidação não enzimática do DHA leva à formação do J3-IsoProstano (J3-IsoPs, *J3-IsoProstan*es), o qual reage com grupos sulfidrila da proteína 1 associada ao ECH semelhante a Kelch (Keap-1, *Kelch-like ECH-associated protein 1*), responsável pela translocação nuclear do fator de transcrição 2 relacionado ao fator eritróide 2 nuclear (Nrf-2, *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) e, a partir disto, a expressão de várias enzimas hepáticas antioxidantes (como a GPx) e a diminuição da taxa de peroxidação lipídica o que, conforme mencionado anteriormente, atenua a injúria hepática por isquemia e reperfusão (179).

Ainda, a translocação nuclear do Nrf-2 aumenta a expressão da HO-1 e da HIF (180). Esta última regula positivamente a expressão do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) e dos receptores A2B de adenosina (181), levando a uma maior secreção de eNOS e a uma inibição da ativação LT-NK, o que culmina em menor liberação de TNF- α e de IL-6 (91,92). A primeira atua aumentando a autofagia (95), uma estratégia de sobrevivência e resgate da homeostase celular, estimulando a formação de substâncias antioxidantes (15) e reduzindo a liberação HMGB-1 (96), medidas que, em conjunto, aliviam o estresse oxidativo (182).

Ou seja, tanto pela via enzimática como pela não enzimática, o DHA promove efeitos desejáveis no controle e combate à inflamação.

O Ácido Araquidônico é, tradicionalmente, conhecido por sua ação pró-inflamatória, mas esta afirmação requer certas ponderações. Algumas delas foram levantadas por Gobbetti *et al.* que pesquisaram, em um modelo murino de isquemia e reperfusão intestinal, as diferenças temporais e quantitativas dos produtos da oxidação enzimática dos ácidos graxos poliinsaturados das séries ômega-3 e -6 e das enzimas responsáveis pela oxidação destes ácidos (183). Eles observaram que as enzimas LOX e CYP exibem um aumento em suas concentrações, desde a fase de isquemia. A presença da COX, porém, ocorre apenas na fase de reperfusão. Este fato é confirmado pela identificação do LTB₄ (produto da ação da LOX sobre o AA) já durante a isquemia e o surgimento da PGE₂ (produto da ação da COX sobre o AA) somente na reperfusão. Embora vários autores tenham postulado que a reperfusão parece ser a etapa mais inflamatória da injúria por I/R (184-186), é o LTB₄ o eicosanóide reconhecido por promover um efeito inflamatório mais potente (187). A PGE₂, por sua vez, associa-se a uma grande plasticidade funcional (188) pois ao ser produzida, se liga, inicialmente, aos receptores 4 de prostaglandina E (EP₄, *E-prostaglandin receptor 4*), pelos quais tem mais afinidade (189) e esta ligação estimula a configuração M1 dos macrófagos e a produção da IL-23, pró-inflamatória (190), mas, ao saturar os receptores EP₄, a PGE₂ começa a se ligar aos receptores 2 de prostaglandina E (EP₂, *E-prostaglandin receptor 2*) e promove ação inversa de polarização M2 dos macrófagos, cessação na produção da IL-23 (191) e liberação de Lipoxina A₄. Esta se liga ao seu receptor, ALXR, promovendo a supressão da via TLR4/NF- κ B e a consequente diminuição da liberação de citocinas pró-inflamatórias. (192). Isto equivale dizer, conforme já afirmado previamente por outros pesquisadores, que para ocorrer a fase de resolução, deve antes haver a fase pró-inflamação (193-195) e que alguns elementos servem de gatilho para esta transição. A PGE₂ parece ser um exemplo disto, apesar de ser produto de oxidação de um ácido historicamente associado a efeitos inflamatórios. Outro exemplo de gatilho é a geração de corpos apoptóticos. Embora seja considerado um evento inflamatório, conforme explicitado na seção 2.1 deste trabalho, este fenômeno contribui para um evento anti-inflamatório pois, a eferocitose (a fagocitose de corpos apoptóticos pelos macrófagos) também desloca os macrófagos para o fenótipo M2 com consequente redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6), aumento na liberação de moléculas pró-resolução e de mediadores anti-inflamatórios IL-10 e TGF- β (196).

Parece-nos, portanto, que um órgão estaria mais apto a sofrer uma lesão isquêmica após experimentar um período de isquemia e reperfusão.

Mas a ação pró-resolução do Ácido Araquidônico e seus metabólitos não se dá apenas pela sequência inflamação-resolução. Hu e colaboradores (197), ao realizarem uma quantificação de eicosanóides no tecido cardíaco de modelos murinos de infarto agudo do miocárdio, encontraram um aumento da metabolização do Ácido Araquidônico em quatro isômeros do Ácido Epoxieicosatrienóico (EET, *epoxyeicosatrienoic acid*), mediador lipídico com potentes efeitos vasodilatadores e anti-inflamatórios, descrito por Jenkins (198) como cardioprotetor pelo resgate da função miocárdica, demonstrando que no campo da injúria por isquemia e reperfusão, metabólitos do Ácido Araquidônico podem ser genuína e primariamente benéficos.

O comportamento do Ácido Dihomo-Gama-Linolênico no Grupo Com Pré-Condicionamento não pode ser caracterizado como alterado, visto que não exhibe diferença significativa na comparação com o Grupo Sham. E é, justamente, esta normalidade que configura este achado como um dos mais importantes do nosso trabalho. Isto porque, no Grupo Sem Pré-Condicionamento o DGLA apresenta aumento, tanto imediato quanto tardio, embora só haja relevância, em relação ao Grupo Sham, no D0. Ou seja, em situações de isquemia há um acúmulo, precoce e mantido, de DGLA. A conservação dos níveis basais deste ácido, no Grupo Com Pré-Condicionamento, nas duas fases do experimento, categoriza o DGLA como o ácido que demonstra de maneira mais evidente a capacidade do PCI em preservar o fígado de uma alteração específica. Ademais, os metabólitos do DGLA pela via COX - prostaglandina A1 e E1 (PGA1 / PGE1, *prostaglandin A1 / E1*) - se associam a um efeito antiinflamatório (199-201) e de proteção tecidual contra o estresse oxidativo (202) através da redução dos níveis de TNF- α (203) com consequente supressão da ação do NF- κ B e da produção de EROs (204), atenuação da permeabilidade vascular (205) e inibição da secreção de ICAM-1 e VCAM-1 (206), impedindo a agregação plaquetária e a adesão de células T, de monócitos e de leucócitos polimorfonucleares (207). A PGE1 também exerceu seu papel protetor reduzindo a apoptose induzida por H₂O₂ em um modelo de lesão por isquemia-reperfusão hepática (208). Os produtos da via LOX também têm efeitos relacionados à inibição da agregação plaquetária, sem alteração da hemostasia, por uma via GPCR ligada à subunidade alfa GS (Gas, *Gs α subunit*) em plaquetas humanas (209).

Muitos foram os estudos que buscaram entender através de quais mecanismos o pré-condicionamento isquêmico do fígado, parecia conferir proteção ao órgão. Os principais e mais sedimentados trabalhos apontam que o PCI 1) modula a resposta inflamatória ao reduzir a produção de TNF- α e IL-6 (91), 2) melhora a regeneração hepática, dado obtido através da comparação de índices imunohistoquímicos de proliferação hepatocitária (210), 3) reduz a produção de EROs e a peroxidação lipídica, conclusão feita a partir da observação do aumento das enzimas antioxidantes SOD e GPx e da redução dos produtos da peroxidação lipídica, o 4-Hidroxinonenal (4-HNE, *4-Hydroxy-2-NonEnal*) e o MDA (16, 211-213) e 4) promove a liberação de adenosina, que faz a regulação positiva da eNOS culminando em alívio da lesão por isquemia e reperfusão (92).

Em nosso estudo, pudemos demonstrar que ratos submetidos à hepatectomia de 70% do parênquima, com condicionamento isquêmico prévio do fígado, exibem uma concentração hepática mais baixa, tanto do total de ácidos graxos, como de diversos ácidos graxos individualmente, a saber: DHA e AA, na comparação com animais submetidos à cirurgia simulada ou hepatectomia sem pré-condicionamento, DGLA, na comparação com animais submetidos à hepatectomia sem pré-condicionamento e ALA, EPA, GLA e DPA n-6 que, embora não exibam diferença estatística significativa, encontram-se em menor concentração hepática, também na comparação com animais submetidos à hepatectomia sem pré-condicionamento. Eles também demonstram preservação da atividade das enzimas envolvidas no metabolismo dos ácidos graxos poliinsaturados das séries ômega-3 e -6, diferente dos animais submetidos à hepatectomia sem pré-condicionamento, que evoluíram com baixa atividade destas enzimas, tanto no D0 quanto no D1 do experimento.

Confrontando a literatura, que demonstra que os benefícios relacionados ao PCI são, em grande parte, os mesmos promovidos pelos produtos da oxidação do DHA e AA, com os nossos resultados, que confirmam, através das análises bioquímica e histológica, que nosso modelo de pré-condicionamento isquêmico confere proteção ao fígado submetido à injúria por isquemia/reperfusão supomos que o mecanismo pelo qual o pré-condicionamento isquêmico parece conferir a hepatoproteção é pelo estímulo à oxidação (β -oxidação, oxidação enzimática e não enzimática) dos ácidos graxos poliinsaturados, culminando na diminuição da concentração hepática deles, o que significa menor acúmulo de gorduras, menor disponibilidade de ácidos para sofrer peroxidação lipídica e levar à lipotoxicidade, além de

menor uso do recurso enzimático, ajudando a prevenir o esgotamento das enzimas que atuam nas vias metabólicas das séries ômega-3 e -6.

A despeito da necessária compreensão dos mecanismos enzimáticos, que se associam e explicam as variações das concentrações dos ácidos graxos nos diferentes grupos, as diferenças expressivas encontradas, permitem um *insight* relacionado à prática clínico-cirúrgica, onde a busca por marcadores de lesão hepática auxilia na tomada de decisões e na profilaxia de complicações. Dessa forma, concluímos que as alterações encontradas no Grupo Sem Pré-Condicionamento ou que foram comuns aos dois grupos, têm potencial de serem úteis como marcadores de injúria por isquemia/reperfusão, enquanto que aquelas encontradas exclusivamente no Grupo Com Pré-Condicionamento, devem ser exploradas como importantes opções terapêuticas.

Finalmente, em nosso estudo pudemos demonstrar os efeitos do pré-condicionamento isquêmico do fígado sobre as concentrações hepáticas dos ácidos graxos e correlacionar os resultados obtidos com os dados disponíveis na literatura, que fortalecem nossas suposições, ainda que haja um amplo horizonte a ser explorado no campo das lesões por isquemia e reperfusão e pré-condicionamento isquêmico.

8 CONCLUSÃO

A hepatectomia de 70% em ratos, sob isquemia contínua de 10 minutos, com ou sem pré condicionamento, acarreta alterações significativas na concentração hepática geral dos ácidos graxos e induz ampla gama de variações na concentração individual dos mesmos, tanto de forma imediata, quanto após 24 horas.

O pré-condicionamento isquêmico, protege o tecido hepático com atenuação de alterações bioquímicas e estímulo precoce à regeneração, que se associam à preservação da atividade das enzimas que metabolizam os ácidos graxos poliinsaturados das séries ômega-3 e -6.

Estas descobertas convidam a um aprofundamento do tema a fim de entender como o pré-condicionamento isquêmico parece estimular a oxidação de ácidos graxos envolvidos na configuração antiinflamatória e à busca do desenvolvimento de estratégias que mimetizem este mecanismo.

Nosso estudo também aponta o Ácido Dihomo-Gama-Linolênico como um promissor biomarcador da injúria por isquemia e reperfusão e do sucesso do tratamento com o pré-condicionamento isquêmico.

REFERÊNCIAS

- 1- Brunschwig A. Hepatic lobectomy for metastatic cancer. Cancer [Internet]. 1963 [cited 2023 Nov 6];16(3):277-282. Available from: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(196303\)16:3<277::AID-CNCR2820160302>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1097-0142(196303)16:3<277::AID-CNCR2820160302>3.0.CO;2-B) doi: 10.1002/1097-0142(196303)16:3<277::aid-cncr2820160302>3.0.co;2-b
- 2- Thompson HH, Tompkins RK, Longmire WP Junior. Major hepatic resection. A 25-year experience. Ann Surg. 1983;197:375-88.
- 3- Balzan SM, Gama-Rodrigues JJ, Belghiti J. Mortality rates after hepatic resection: early and effective postoperative risk factor determination. Arq Bras Cir Dig [Internet]. 2007 [cited 2023 Nov 6];20(1):1-7. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0102-67202007000100001> doi: 10.1590/S0102-67202007000100001
- 4- Gilg S, Sandström P, Rizell M, Lindell G, Ardnor B, Strömberg C, et al. The impact of post-hepatectomy liver failure on mortality: a population-based study. Scand J Gastroenterol [Internet]. 2018 [cited 2023 Nov 6];53(10-11):1335-1339. Available from: <https://doi.org/10.1080/00365521.2018.1501604> doi: 10.1080/00365521.2018.1501604
- 5- Rahbari NN, Garden OJ, Padbury R, Brooke-Smith M, Crawford M, Adam R, et al. Posthepatectomy liver failure: a definition and grading by the International Study Group of Liver Surgery (ISGLS). Surgery [Internet]. 2011 [cited 2023 Nov 6];149(5):713-24. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2010.10.001> doi: 10.1016/j.surg.2010.10.001
- 6- Alexandrino H, Rolo A, Tralhão JG, Castro e Sousa F, Palmeira C. Mitochondria in Liver Regeneration: Energy Metabolism and Posthepatectomy Liver Dysfunction. In: Oliveira, PJ. Mitochondrial Biology and Experimental Therapeutics. Portugal: Springer Cham; 2018. p. 127-152.
- 7- Ito Y, Hosono K, Amano H. Responses of hepatic sinusoidal cells to liver ischemia-reperfusion injury. Front Cell Dev Biol [Internet]. 2023 [cited 2024 Jan 18];11:1171317. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1171317> doi: 10.3389/fcell.2023.1171317
- 8- Sparrelid E, Olthof PB, Dasari BV, Erdmann JI, Santol J, Starlinger P, et al. Current evidence on posthepatectomy liver failure: comprehensive review. BJS Open [Internet]. 2022 [cited 2023 Dec 11];6(6):zrac142. Available from: <https://doi.org/10.1093/bjsopen/zrac142> doi: 10.1093/bjsopen/zrac142
- 9- Miyazaki T, Zipes DP. Protection against autonomic denervation following acute myocardial infarction by preconditioning ischemia. Circ Res [Internet]. 1989 [cited 2023 Nov 6];64(3):437-48. Available from: <https://doi.org/10.1161/01.res.64.3.437> doi: 10.1161/01.res.64.3.437
- 10- Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. Ann Surg

[Internet] 2000 [cited 2024 Feb 7];232:155–2. Available from: <https://doi.org/10.1097/00000658-200008000-00001> doi: 10.1097/00000658-200008000-00001

11- de Oliveira GC, de Oliveira WK, Yoshida WB, Sobreira ML. Impacts of ischemic preconditioning in liver resection: systematic review with meta-analysis. *Int J Surg* [Internet]. 2023 [cited 2024 Feb 7];109(6):1720-1727. Available from: <https://doi.org/10.1097/JS9.0000000000000243> doi: 10.1097/JS9.0000000000000243

12- Clavien PA, Selzner M, Rudiger HA, Graf R, Kadry Z, Rousson V, et al. A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg* [Internet]. 2003 [cited 2023 Nov 6];238(6):843–852. Available from: <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000098620.27623.7d> doi: 10.1097/01.sla.0000098620.27623.7d

13- Guimarães MA Filho, Cortez E, Garcia-Souza ÉP, Soares VM, Moura AS, Carvalho L, et al. Effect of remote ischemic preconditioning in the expression of IL-6 and IL-10 in a rat model of liver ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir. Bras* [Internet]. 2015 [cited 2024 Feb 7];30:452–460. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0102-865020150070000002> doi: 10.1590/S0102-865020150070000002

14- Nakano A, Cohen MV, Downey JM. Ischemic preconditioning: from basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacol. Ther* [Internet]. 2000 [cited 2024 Feb 7];86:263–275. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(00\)00058-9](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(00)00058-9) doi: 10.1016/S0163-7258(00)00058-9

15- Origassa CS, Câmara NO. Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury. *World J. Hepatol* [Internet]. 2013 [cited 2024 Feb 7];5(10):541–549. Available from: <https://doi.org/10.4254/wjh.v5.i10.541> doi: 10.4254/wjh.v5.i10.541

16- Tang SP, Mao XL, Chen YH, Yan LL, Ye LP, Li SW. Reactive Oxygen Species Induce Fatty Liver and Ischemia-Reperfusion Injury by Promoting Inflammation and Cell Death. *Front Immunol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 7];13:870239. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.870239> doi: 10.3389/fimmu.2022.870239

17- Kobayashi T., Hirano K., Yamamoto T., Hasegawa G., Hatakeyama K., Suematsu M., Naito M. The protective role of Kupffer cells in the ischemia-reperfused rat liver. *Arch. Histol. Cytol.* 2002;65:251–261. doi: 10.1679/aohc.65.251.

18- Bamboat Z.Z.M., Ocuin L.M., Balachandran V.P., Obaid H., Plitas G., DeMatteo R.R.P., Lotze M., Clavien P., Harvey P., Strasberg S., et al. Conventional DCs reduce liver ischemia/reperfusion injury in mice via IL-10 secretion. *J. Clin. Investig.* 2010;120:559–569. doi: 10.1172/JCI40008

19- Guo J, Zhang T, Gu J, Cai K, Deng X, Chen K, et al. Oleic Acid Protects against Hepatic Ischemia and Reperfusion Injury in Mice by Inhibiting AKT/mTOR Pathways. *Oxid Med Cell*

Longev [Internet]. 2019 [cited 2023 Dec 11];2019:4842592. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/4842592> doi: 10.1155/2019/4842592

20- Secor JD, Fligor SC, Tsikis ST, Yu LJ, Puder M. Free Fatty Acid Receptors as Mediators and Therapeutic Targets in Liver Disease. *Front. Physiol* [Internet]. 2021 [cited 2023 Dec 11];12:656441. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.656441> doi: 10.3389/fphys.2021.656441

21- Sztolsztener K, Chabowski A, Harasim-Symbor E, Bielawiec P, Konstantynowicz-Nowicka K. Arachidonic Acid as an Early Indicator of Inflammation during Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Development. *Biomolecules* [Internet]. 2020 [cited 2023 Dec 11];10(8):1133. Available from: <https://doi.org/10.3390/biom10081133> doi: 10.3390/biom10081133

22- International Agency for Research on Cancer [Internet]. France: IARC; c2023 [cited 2023 Nov 6]. Available from https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?years=2030&single_unit=50000&cancers=11.

23- Balzan S, Belghiti J, Farges O, Ogata S, Sauvanet A, Delefosse D, et al. The “50–50 criteria” on postoperative day 5: an accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy. *Ann Surg* [Internet]. 2005 [cited 2023 Dec 11];242:824–828. Available from <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000189131.90876.9e> doi: 10.1097/01.sla.0000189131.90876.9e

24- Mullen JT, Ribero D, Reddy SK, Donadon M, Zorzi D, Gautam S, et al. Hepatic insufficiency and mortality in 1059 noncirrhotic patients undergoing major hepatectomy. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2007 [cited 2023 Dec 11];204:854–862. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2006.12.032> doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2006.12.032

25- Sultana A, Brooke-Smith M, Ullah S, Figueras J, Rees M, Vauthey JN, et al. Prospective evaluation of the International Study Group for Liver Surgery definition of post hepatectomy liver failure after liver resection: an international multicentre study. *HPB* [Internet]. 2018 [cited 2023 Dec 11];20:462–469. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.hpb.2017.11.007> doi: 10.1016/j.hpb.2017.11.007

26- Niederwieser T, Braunwarth E, Dasari BV, Pufal K, Szatmary P, Hackl H, et al. Early postoperative arterial lactate concentrations to stratify risk of post-hepatectomy liver failure. *Br J Surg* [Internet]. 2021 [cited 2023 Dec 11];108:1360–1370. Available from: <https://doi.org/10.1093/bjs/znab338> doi: 10.1093/bjs/znab338

27- Artru F, McPhail MJW, Triantafyllou E, Trovato FM. Lipids in Liver Failure Syndromes: A Focus on Eicosanoids, Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators and Lysophospholipids. *Front Immunol*. 2022 Mar 31;13:867261. doi: 10.3389/fimmu.2022.867261. PMID: 35432367; PMCID: PMC9008479.

- 28- Søreide JA, Deshpande R. Post hepatectomy liver failure (PHLF) - Recent advances in prevention and clinical management. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2021 [cited 2023 Dec 11];47(2):216-224. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2020.09.001> doi: 10.1016/j.ejso.2020.09.001
- 29- Rahnama-Azar AA, Cloyd JM, Weber SM, Dillhoff M, Schmidt C, Winslow ER, et al. Update on Liver Failure Following Hepatic Resection: Strategies for Prediction and Avoidance of Post-operative Liver Insufficiency. *J Clin Transl Hepatol* [Internet]. 2018 [cited 2023 Dec 11];6(1):97-104. Available from: <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00060> doi: 10.14218/JCTH.2017.00060
- 30- Lin S, Song Z, Peng H, Qian B, Lin H, Wu X, et al. A novel nomogram based on preoperative parameters to predict posthepatectomy liver failure in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery* [Internet]. 2023 [cited 2023 Dec 11];174(4):865-873. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2023.06.025> doi: 10.1016/j.surg.2023.06.025
- 31- Delis SG, Bakoyiannis A, Biliatis I, Athanassiou K, Tassopoulos N, Dervenis C. Model for end-stage liver disease (MELD) score, as a prognostic factor for post-operative morbidity and mortality in cirrhotic patients, undergoing hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *HPB* [Internet]. 2009 [cited 2023 Dec 11];11:351–357. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2009.00067.x> doi: 10.1111/j.1477-2574.2009.00067.x
- 32- Fromer MW, Aloia TA, Gaughan JP, Atabek UM, Spitz FR. The utility of the MELD score in predicting mortality following liver resection for metastasis. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2016 [cited 2023 Dec 11];42:1568–1575. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2016.05.035> doi: 10.1016/j.ejso.2016.05.035
- 33- Botta F, Giannini E, Romagnoli P, Fasoli A, Malfatti F, Chiarbonello B, et al. MELD scoring system is useful for predicting prognosis in patients with liver cirrhosis and is correlated with residual liver function: a European study. *Gut* [Internet]. 2003 [cited 2023 Dec 11];52(1):134-9. Available from: <https://doi.org/10.1136/gut.52.1.134> doi: 10.1136/gut.52.1.134
- 34- Zou H, Yang X, Li QL, Zhou QX, Xiong L, Wen Y. A Comparative Study of Albumin-Bilirubin Score with Child-Pugh Score, Model for End-Stage Liver Disease Score and Indocyanine Green R15 in Predicting Posthepatectomy Liver Failure for Hepatocellular Carcinoma Patients. *Dig Dis* [Internet]. 2018 [cited 2023 Dec 11];36(3):236-243. Available from: <https://doi.org/10.1159/000486590> doi: 10.1159/000486590
- 35- Fagenson AM, Gleeson EM, Pitt HA, Lau KN. Albumin-Bilirubin Score vs Model for End-Stage Liver Disease in Predicting Post-Hepatectomy Outcomes. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2020 [cited 2023 Dec 11];230(4):637-645. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2019.12.007> doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2019.12.007
- 36- Shi JY, Sun LY, Quan B, Xing H, Li C, Liang L, et al. A novel online calculator based on noninvasive markers (ALBI and APRI) for predicting post-hepatectomy liver failure in

patients with hepatocellular carcinoma. Clin Res Hepatol Gastroenterol [Internet]. 2021 [cited 2023 Dec 11];45(4):101534. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2020.09.001> doi: 10.1016/j.clinre.2020.09.001

37- Johnson PJ, Berhane S, Kagebayashi C, Satomura S, Teng M, Reeves HL, et al. Assessment of liver function in patients with hepatocellular carcinoma: a new evidence-based approach-the ALBI grade. J Clin Oncol [Internet]. 2015 [cited 2023 Dec 11];33(6):550-8. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.57.9151> doi: 10.1200/JCO.2014.57.9151

38- Nishio T, Taura K, Koyama Y, Ishii T, Hatano E. Current status of preoperative risk assessment for posthepatectomy liver failure in patients with hepatocellular carcinoma. Ann Gastroenterol Surg [Internet]. 2023 [cited 2023 Dec 11];7(6):871-886. Available from: <https://doi.org/10.1002/ags3.12692> doi: 10.1002/ags3.12692

39- Feng JW, Qu Z, Wu BQ, Sun DL, Jiang Y. The preoperative fibrosis score 4 predicts posthepatectomy liver failure in patients with hepatocellular carcinoma. Ann Hepatol [Internet]. 2019 [cited 2023 Dec 11];18(5):701-707. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aohp.2019.04.017> doi: 10.1016/j.aohp.2019.04.017

40- Dhir M, Samson KK, Yepuri N, Yanala UR, Smith LM, Are C. Preoperative nomogram to predict posthepatectomy liver failure. J Surg Oncol [Internet]. 2021 [cited 2023 Dec 11];123(8):1750-1756. Available from: <https://doi.org/10.1002/jso.26463> doi: 10.1002/jso.26463

41- Ashouri Y, Hsu CH, Riall TS, Konstantinidis IT, Maegawa FB. Aspartate Aminotransferase-to-Platelet Ratio Index Predicts Liver Failure After Resection of Colorectal Liver Metastases. Dig Dis Sci [Internet]. 2022 [cited 2023 Dec 11];67(10):4950-4958. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10620-021-07333-3> doi: 10.1007/s10620-021-07333-3

42- Maki H, Hasegawa K. Advances in the surgical treatment of liver cancer. Biosci Trends [Internet]. 2022 [cited 2023 Dec 11];16(3):178-188. Available from: <https://doi.org/10.5582/bst.2022.01245> doi: 10.5582/bst.2022.01245

43- Yi F, Zhang W, Feng L. Efficacy and safety of different options for liver regeneration of future liver remnant in patients with liver malignancies: a systematic review and network meta-analysis. World J Surg Oncol [Internet]. 2022 [cited 2023 Dec 11];20(1):399. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12957-022-02867-w> doi: 10.1186/s12957-022-02867-w

44- Ocak İ, Topaloğlu S, Acarli K. Posthepatectomy liver failure. Turk J Med Sci [Internet]. 2020 [cited 2023 Dec 11];50(6):1491-1503. Available from: <https://doi.org/10.3906/sag-2006-31> doi: 10.3906/sag-2006-31

45- Tomassini F, Giglio MC, De Simone G, Montalti R, Troisi RI. Hepatic function assessment to predict post-hepatectomy liver failure: what can we trust? A systematic review.

Updates in Surgery [Internet]. 2020 [cited 2023 Dec 11];72(4):925-938. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13304-020-00859-7> doi:10.1007/s13304-020-00859-7

46- Emond JC, Renz JF, Ferrell LD, Rosenthal P, Lim RC, Roberts JP, et al. Functional analysis of grafts from living donors. Implications for the treatment of older recipients. *Ann Surg* [Internet]. 1996 [cited 2023 Dec 11];224(4):544-52. Available from: <https://doi.org/10.1097/00000658-199610000-00012> doi: 10.1097/00000658-199610000-00012

47- Asencio JM, Vaquero J, Olmedilla L, García Sabrido JL. "Small-for-flow" syndrome: shifting the "size" paradigm. *Med Hypotheses* [Internet]. 2013 [cited 2023 Dec 11];80(5):573-7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.01.028> doi: 10.1016/j.mehy.2013.01.028

48- Eipel C, Abshagen K, Vollmar B. "Small-for-size": Experimentelle Erkenntnisse für die Leberchirurgie [Small-for-size: experimental findings for liver surgery]. *Chirurg* [Internet]. 2012 [cited 2023 Dec 11];83(3):238-46. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00104-011-2179-4> doi: 10.1007/s00104-011-2179-4

49- Zhang YP, Liu XR, Yang MW, Yang SL, Hong FF. New progress in understanding roles of nitric oxide during hepatic ischemia-reperfusion injury. *World J Hepatol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 18];14(3):504-515. Available from: <https://doi.org/10.4254/wjh.v14.i3.504> doi: 10.4254/wjh.v14.i3.504

50- Hirao H, Nakamura K, Kupiec-Weglinski JW. Liver ischaemia-reperfusion injury: a new understanding of the role of innate immunity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 18];19(4):239-256. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00549-8> doi: 10.1038/s41575-021-00549-8

51- Adibhatla RM, Hatcher JF. Phospholipase A(2), reactive oxygen species, and lipid peroxidation in CNS pathologies. *BMB Rep* [Internet]. 2008 [cited 2024 Mar 23];41(8):560-7. Available from: <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.8.560> doi: 10.5483/bmbrep.2008.41.8.560

52- Isaza SC, Del Pozo-Maroto E, Domínguez-Alcón L, Elbouayadi L, González-Rodríguez Á, García-Monzón C. Hypoxia and Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Front Med* [Internet]. 2020 [cited 2024 Mar 23];7:578001. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.578001> doi: 10.3389/fmed.2020.578001

53- Shu H, Peng Y, Hang W, Nie J, Zhou N, Wang DW. The role of CD36 in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2022 Jan 7;118(1):115-129. doi: 10.1093/cvr/cvaa319. PMID: 33210138; PMCID: PMC8752351.

54- Kaltenmeier C, Wang R, Popp B, Geller D, Tohme S, Yazdani HO. Role of Immuno-Inflammatory Signals in Liver Ischemia-Reperfusion Injury. *Cells* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 18];11(14):2222. Available from: <https://doi.org/10.3390/cells11142222> doi: 10.3390/cells11142222

- 55- Xie F, Li ZP, Wang HW, Fei X, Jiao ZY, Tang WB, et al. Evaluation of Liver Ischemia-Reperfusion Injury in Rabbits Using a Nanoscale Ultrasound Contrast Agent Targeting ICAM-1. PLoS One [Internet]. 2016 [cited 2024 Jan 18];11(4):e0153805. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153805> doi: 10.1371/journal.pone.0153805
- 56- Ni M, Zhang J, Sosa R, Zhang H, Wang H, Jin D, et al. T-Cell Immunoglobulin and Mucin Domain-Containing Protein-4 Is Critical for Kupffer Cell Homeostatic Function in the Activation and Resolution of Liver Ischemia Reperfusion Injury. Hepatology [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 18];74(4):2118-2132. Available from: <https://doi.org/10.1002/hep.31906> doi: 10.1002/hep.31906
- 57- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. Signal Transduct Target Ther [Internet]. 2017 [cited 2024 Jan 18];2:17023. Available from: <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23> doi: 10.1038/sigtrans.2017.23
- 58- Cornice J, Verzella D, Arboretto P, Vecchiotti D, Capece D, Zazzeroni F, et al. NF- κ B: Governing Macrophages in Cancer. Genes [Internet]. 2024 [cited 2024 Feb 7];15(2):197. Available from: <https://doi.org/10.3390/genes15020197> doi: 10.3390/genes15020197
- 59- Dar WA, Sullivan E, Bynon JS, Eltzschig H, Ju C. Ischaemia reperfusion injury in liver transplantation: Cellular and molecular mechanisms. Liver Int [Internet]. 2019 [cited 2024 Feb 7];39(5):788-801. Available from: <https://doi.org/10.1111/liv.14091> doi: 10.1111/liv.14091
- 60- Villard A, Boursier J, Andriantsitohaina R. Bacterial and eukaryotic extracellular vesicles and nonalcoholic fatty liver disease: new players in the gut-liver axis? Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol [Internet]. 2021 [cited 2024 Feb 7];320(4):G485-G495. Available from: <http://doi.org/10.1152/ajpgi.00362.2020> doi: 10.1152/ajpgi.00362.2020
- 61- Jiménez-Castro MB, Cornide-Petronio ME, Gracia-Sancho J, Peralta C. Inflammasome-Mediated Inflammation in Liver Ischemia-Reperfusion Injury. Cells [Internet]. 2019 [cited 2024 Jan 18];8(10):1131. Available from: <https://doi.org/10.3390/cells8101131> doi: 10.3390/cells8101131
- 62- Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: Molecular activation and regulation to therapeutics. Nat. Rev. Immunol [Internet]. 2019 [cites 2024 Jan 18];19:477–489. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0> doi: 10.1038/s41577-019-0165-0
- 63- Richter K, Amati AL, Padberg W, Grau V. Negative regulation of ATP-induced inflammasome activation and cytokine secretion by acute-phase proteins: A mini review. Front Pharmacol [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 28];13:981276. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.981276> doi: 10.3389/fphar.2022.981276

- 64- Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat. Med* [Internet]. 2011 [cited 2024 Jan 18];17(11):1391-1401. Available from: <https://doi.org/10.1038/nm.2507> doi: 10.1038/nm.2507
- 65- Zeeshan, H.M.A.; Lee, G.H.; Kim, H.-R.; Chae, H.-J. Endoplasmic Reticulum Stress and Associated ROS. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 327. <https://doi.org/10.3390/ijms17030327>
- 66- Vandendriessche S, Cambier S, Proost P, Marques PE. Complement Receptors and Their Role in Leukocyte Recruitment and Phagocytosis. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 18];9:624025. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.624025> doi: 10.3389/fcell.2021.624025
- 67- Au-Yeung KK, Shang Y, Wijerathne CU, Hewage SM, Siow YL, O K. Acute Kidney Injury Induces Oxidative Stress and Hepatic Lipid Accumulation through AMPK Signaling Pathway. *Antioxidants* [Internet]. 2023 [cited 2024 Mar 23];12(4):883. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox12040883> doi: 10.3390/antiox12040883
- 68- Su LJ, Zhang JH, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, et al. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2019 [cited 2024 Jan 18];2019:5080843. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/5080843> doi: 10.1155/2019/5080843
- 69- Kim JW, Lee JY, Oh M, Lee EW. An integrated view of lipid metabolism in ferroptosis revisited via lipidomic analysis. *Exp Mol Med* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jan 18];55(8):1620-1631. Available from: <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01077-y> doi: 10.1038/s12276-023-01077-y
- 70- Jarc E, Petan T. Lipid Droplets and the Management of Cellular Stress. *Yale J Biol Med.* 2019;92(3):435-452.
- 71- Zhao Y, Zhao MF, Jiang S, Wu J, Liu J, Yuan XW, et al. Liver governs adipose remodelling via extracellular vesicles in response to lipid overload. *Nat Commun* [Internet]. 2020 [cited 2024 Mar 23];11:719. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14450-6> doi: 10.1038/s41467-020-14450-6
- 72- Ge Y, Huang M, Yao YM. Efferocytosis and Its Role in Inflammatory Disorders. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Feb 25;10:839248. doi: 10.3389/fcell.2022.839248. PMID: 35281078; PMCID: PMC8913510.
- 73- Vassiliou E, Farias-Pereira R. Impact of Lipid Metabolism on Macrophage Polarization: Implications for Inflammation and Tumor Immunity. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023 [cited 2024 Mar 23];24(15):12032. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms241512032> doi: 10.3390/ijms241512032

- 74- Francque, Sven M., et al. A Randomized, Controlled Trial of the Pan-PPAR Agonist Lanifibranor in NASH. *The New England Journal of Medicine*, vol. 385, no. 17, 2021, pp. 1547–58, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2036205>.
- 75- Peters F, Ebner LJA, Atac D, Maggi J, Berger W, den Hollander AI, Grimm C. Regulation of ABCA1 by AMD-Associated Genetic Variants and Hypoxia in iPSC-RPE. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 16;23(6):3194. doi: 10.3390/ijms23063194. PMID: 35328615; PMCID: PMC8953808.
- 76- Zhang G, Li Q, Tao W, Qin P, Chen J, Yang H, Chen J, Liu H, Dai Q, Zhen X. Sigma-1 receptor-regulated efferocytosis by infiltrating circulating macrophages/microglial cells protects against neuronal impairments and promotes functional recovery in cerebral ischemic stroke. *Theranostics*. 2023 Jan 1;13(2):543-559. doi: 10.7150/thno.77088. PMID: 36632219; PMCID: PMC9830433.
- 77- Wang W, Hu X, Xia Z, Liu Z, Zhong Z, Lu Z, Liu A, Ye S, Cao Q, Wang Y, Zhu F, Ye Q. Mild Hypothermia Attenuates Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury through Regulating the JAK2/STAT3-CPT1a-Dependent Fatty Acid β -Oxidation. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Mar 20;2020:5849794. doi: 10.1155/2020/5849794. PMID: 32256954; PMCID: PMC7109578.
- 78- Liss KH, Mousa M, Bucha S, Lutkewitte A, Allegood J, Cowart LA, et al. Dynamic changes in the mouse hepatic lipidome following warm ischemia reperfusion injury. *Sci Rep* [Internet]. 2024 [cited 2024 Mar 23];14(1):3584. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54122-9> doi: 10.1038/s41598-024-54122-9
- 79- Zhang L, Ma XJ, Fei YY, Han HT, Xu J, Cheng L, et al. Stem cell therapy in liver regeneration: Focus on mesenchymal stem cells and induced pluripotent stem cells. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2022 [cited 2024 Feb 7];232:108004. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.108004> doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.108004
- 80- El-Ghoneimi A, Cursio R, Schmid-Alliana A, Tovey M, Lasfar A, Michiels JF, et al. Pentoxifylline inhibits liver expression of tumor necrosis factor alpha mRNA following normothermic ischemia-reperfusion. *HPB* [Internet]. 2007 [cited 2024 Feb 7];9(2):112-119. Available from: <https://doi.org/10.1080/13651820701272292> doi: 10.1080/13651820701272292
- 81- Adams J, Dhar A, Shukla S, Silver D. Effect of pentoxifylline on tissue injury and platelet-activating factor production during ischemia- reperfusion injury. *J Vasc Surg* [Internet]. 1995 [cited 2024 Feb 7];21(5):742-8. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0741-5214\(05\)80005-9](https://doi.org/10.1016/s0741-5214(05)80005-9) doi: 10.1016/s0741-5214(05)80005-9
- 82- Slankamenac K, Breitenstein S, Beck-Schimmer B, Graf R, Puhan MA, Clavien PA. Does pharmacological conditioning with the volatile anaesthetic sevoflurane offer protection in liver surgery? *HPB* [Internet]. 2012 [cited 2024 Feb 7];14(12):854-62. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2012.00570.x> doi: 10.1111/j.1477-2574.2012.00570.x

- 83- Beck-Schimmer B, Breitenstein S, Urech S, De Conno E, Wittlinger M, Puhan M, et al. A randomized controlled trial on pharmacological preconditioning in liver surgery using a volatile anesthetic. *Ann Surg* [Internet]. 2008 [cited 2024 Feb 7];248(6):909-18. Available from: <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31818f3dda> doi: 10.1097/SLA.0b013e31818f3dda
- 84- Vetrugno L, Bove T. Ischemic preconditioning: light and shadow. *Minerva Anestesiol* [Internet]. 2020 [cited 2024 Feb 7];86(3):241-243. Available from: <https://doi.org/10.23736/S0375-9393.20.14344-X> doi: 10.23736/S0375-9393.20.14344-X
- 85- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* [Internet]. 1986 [cited 2024 Feb 7];74(5):1124-36. Available from: <https://doi.org/10.1161/01.cir.74.5.1124> doi: 10.1161/01.cir.74.5.1124
- 86- Lloris-Carsi JM, Cejalvo D, Toledo-Pereyra LH, Calvo MA, Suzuki S. Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia. *Transplant Proc.* 1993;25(6):3303–3304.
- 87- Pringle JH. V. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due to Trauma. *Ann Surg* [Internet]. 1908 [cited 2024 Feb 7];48(4):541-9. Available from: <https://doi.org/10.1097/00000658-190810000-00005> doi: 10.1097/00000658-190810000-00005
- 88- Gurusamy KS, Kumar Y, Pamecha V, Sharma D, Davidson BR. Ischaemic preconditioning for elective liver resections performed under vascular occlusion. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2009 [cited 2024 Feb 7];(1):CD007629. Available from: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007629> doi: 10.1002/14651858.CD007629
- 89- Peralta C, Closa D, Xaus C, Gelpí E, Roselló-catafau J, Hotter G. Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine. *Hepatology* [Internet]. 1998 [cited 2024 Feb 7];28:768–773. Available from: <https://doi.org/10.1002/hep.510280325> doi: 10.1002/hep.510280325.
- 90- Koti RS, Tsui J, Lobos E, Yang W, Seifalian AM, Davidson BR. Nitric oxide synthase distribution and expression with ischemic preconditioning of the rat liver. *FASEB J* [Internet]. 2005 [cited 2024 Feb 7];19:1155–1157. Available from: <https://doi.org/10.1096/fj.04-3220fje> doi: 10.1096/fj.04-3220fje
- 91- Lappas CM, Day Y-J, Marshall MA, Engelhard VH, Linden J. Adenosine A2A receptor activation reduces hepatic ischemia reperfusion injury by inhibiting CD1d-dependent NKT cell activation. *J. Exp. Med* [Internet]. 2006 [cited 2024 Feb 7];203:2639–2648. Available from: <https://doi.org/10.1084/jem.20061097> doi: 10.1084/jem.20061097
- 92- Ajamieh HH, Candelario-Jalil E, Fernández OS, Gerbes AL. Ischaemic and pharmacological preconditionings protect liver via adenosine and redox status following hepatic ischaemia/reperfusion in rats. *Clin. Sci* [Internet]. 2008 [cited 2024 Feb 7];115:69–77. Available from: <https://doi.org/10.1042/CS20070415> doi: 10.1042/CS20070415

- 93- Ricciardi R, Meyers WC, Schaffer BK, Kim RD, Shah SA, Wheeler SM, et al. Protein kinase C inhibition abrogates hepatic ischemic preconditioning responses. *J. Surg. Res* [Internet]. 2001 [cited 2024 Feb 7];97:144–149. Available from: <https://doi.org/10.1006/jsre.2001.6139> doi: 10.1006/jsre.2001.6139
- 94- Meng G-X, Yuan Q, Wei L-P, Meng H, Wang Y-J. Protein kinase C- β inhibitor treatment attenuates hepatic ischemia and reperfusion injury in diabetic rats. *Exp. Ther. Med* [Internet]. 2016 [cited 2024 Feb 7];11:565–570. Available from: <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2927> doi: 10.3892/etm.2015.2927
- 95- Wang Y, Shen J, Xiong X, Xu Y, Zhang H, Huang C, et al. Remote ischemic preconditioning protects against liver ischemia-reperfusion injury via heme oxygenase-1-induced autophagy. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 [cited 2024 Feb 7];9:e98834. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098834> doi: 10.1371/journal.pone.0098834
- 96- Wang J, Hu X, Fu W, Xie J, Zhou X, Jiang H. Isoproterenol-mediated heme oxygenase-1 induction inhibits high mobility group box 1 protein release and protects against rat myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo. *Mol. Med. Rep* [Internet]. 2014 [cited 2024 Feb 7]. Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2026> doi: 10.3892/mmr.2014.2026
- 97- Datta G, Luong TV, Fuller BJ, Davidson BR. Endothelial nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 act independently in liver ischemic preconditioning. *J. Surg. Res* [Internet]. 2014 [cited 2024 Feb 7];186:417–428. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2013.08.019> doi: 10.1016/j.jss.2013.08.019
- 98- Dal-Secco D, Wang J, Zeng Z, Kolaczowska E, Wong CH, Petri B, et al. A dynamic spectrum of monocytes arising from the in situ reprogramming of CCR2⁺ monocytes at a site of sterile injury. *J. Exp. Med* [Internet]. 2015 [cited 2024 Feb 7];212:447–456. Available from: <https://doi.org/10.1084/jem.20141539> doi: 10.1084/jem.20141539
- 99- Koneru B, Shareef A, Dikdan G, Desai K, Klein KM, Peng B, et al. The ischemic preconditioning paradox in deceased donor liver transplantation—Evidence from a prospective randomized single blind clinical trial. *Am. J. Transplant* [Internet]. 2007 [cited 2024 Feb 7];7:2788–2796. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.02009.x> doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.02009.x
- 100- Lund, J., Rustan, A. C (2020) Fatty acids: structures and properties. *Encyclopedia of Life Sciences*, 283-292
- 101- Galli, C., Risé, P. (2006) Origin of fatty acids in the body: endogenous synthesis *versus* dietary intakes. *Eur J Lipid Sci Technol*, 108:521-525
- 102- Gyamfi, D., Awuah, E. O., Owusu, S (2019) Lipid metabolism: an overview. In *The molecular nutrition of fats*. Vinood B. Patel, editor. Elsevier, London. Chapter 2, 17-32

- 103- Gupta, R., Gupta, N., Gupta, R., & Gupta, N (2021). Lipid biosynthesis and degradation. In *Fundamentals of Bacterial Physiology and Metabolism*. Springer, Singapore. Chapter 18, 491-523
- 104- Vaittinen M, Männistö V, Käkälä P, Ågren J, Tiainen M, Schwab U, Pihlajamäki J. Interorgan cross talk between fatty acid metabolism, tissue inflammation, and FADS2 genotype in humans with obesity. *Obesity* (Silver Spring). 2017 Mar;25(3):545-552. doi: 10.1002/oby.21753. Epub 2017 Feb 1. PMID: 28145068.
- 105- Tamer F, Ulug E, Akyol A, Nergiz-Unal R. The potential efficacy of dietary fatty acids and fructose induced inflammation and oxidative stress on the insulin signaling and fat accumulation in mice. *Food Chem Toxicol*. 2020 Jan;135:110914. doi: 10.1016/j.fct.2019.110914. Epub 2019 Oct 28. PMID: 31672515.
- 106- Jaileene Hernandez Escalante, Albert Jones, Victoria Volfson Sedletsky, Hans Dooms; Regulation of IL-10-producing T cells by polyunsaturated fatty acids. *J Immunol* 1 May 2019; 202 (1_Supplement): 125.2. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.202.Supp.125.2>
- 107- Tuttolomondo A, Simonetta I, Daidone M, Mogavero A, Ortello A, Pinto A. Metabolic and Vascular Effect of the Mediterranean Diet. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 23;20(19):4716. doi: 10.3390/ijms20194716. PMID: 31547615; PMCID: PMC6801699.
- 108- Wang Z, Zhao Y. Gut microbiota derived metabolites in cardiovascular health and disease. *Protein Cell*. 2018 May;9(5):416-431. doi: 10.1007/s13238-018-0549-0. Epub 2018 May 3. PMID: 29725935; PMCID: PMC5960473.
- 109- Watanabe Y, Tatsuno I. Prevention of Cardiovascular Events with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Mechanism Involved. *J Atheroscler Thromb*. 2020 Mar 1;27(3):183-198. doi: 10.5551/jat.50658. Epub 2019 Oct 3. PMID: 31582621; PMCID: PMC7113138.
- 110- Welty FK. Omega-3 fatty acids and cognitive function. *Curr Opin Lipidol*. 2023 Feb 1;34(1):12-21. doi: 10.1097/MOL.0000000000000862. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36637075; PMCID: PMC11878108.
- 111- Chisaguano AM, Montes R, Pérez-Berezo T, Castellote AI, Guerendiain M, Bustamante M, Morales E, García-Esteban R, Sunyer J, Franch A, López-Sabater MC. Gene expression of desaturase (FADS1 and FADS2) and Elongase (ELOVL5) enzymes in peripheral blood: association with polyunsaturated fatty acid levels and atopic eczema in 4-year-old children. *PLoS One*. 2013 Oct 22;8(10):e78245. doi: 10.1371/journal.pone.0078245. PMID: 24167612; PMCID: PMC3805510.
- 112- Chen X, Gong X, Jiang R, Wang B, Kuang G, Li K, Wan J. Resolvin D1 attenuates CCl4-induced acute liver injury involving up-regulation of HO-1 in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2016;38(2):61-7. doi: 10.3109/08923973.2015.1115517. Epub 2015 Dec 2. PMID: 26630551.

- 113- Serhan CN, Dalli J, Karamnov S, Choi A, Park CK, Xu ZZ, Ji RR, Zhu M, Petasis NA. Macrophage proresolving mediator maresin 1 stimulates tissue regeneration and controls pain. *FASEB J*. 2012 Apr;26(4):1755-65. doi: 10.1096/fj.11-201442. Epub 2012 Jan 17. PMID: 22253477; PMCID: PMC3316905.
- 114- Dalli J, Serhan CN. Specific lipid mediator signatures of human phagocytes: microparticles stimulate macrophage efferocytosis and pro-resolving mediators. *Blood*. 2012 Oct 11;120(15):e60-72. doi: 10.1182/blood-2012-04-423525. Epub 2012 Aug 17. PMID: 22904297; PMCID: PMC3471524.
- 115- Murakami T, Suzuki K, Tamura H, Nagaoka I. Suppressive action of resolvin D1 on the production and release of septic mediators in D-galactosamine-sensitized endotoxin shock mice. *Exp Ther Med*. 2011 Jan;2(1):57-61. doi: 10.3892/etm.2010.170. Epub 2010 Dec 2. PMID: 22977469; PMCID: PMC3440633.
- 116- Serhan CN, Levy BD. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest*. 2018 Jul 2;128(7):2657-2669. doi: 10.1172/JCI97943. Epub 2018 May 14. PMID: 29757195; PMCID: PMC6025982.
- 117- El Kebir D, Gjorstrup P, Filep JG. Resolvin E1 promotes phagocytosis-induced neutrophil apoptosis and accelerates resolution of pulmonary inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Sep 11;109(37):14983-8. doi: 10.1073/pnas.1206641109. Epub 2012 Aug 27. PMID: 22927428; PMCID: PMC3443132.
- 118- Gu J, Luo L, Wang Q, Yan S, Lin J, Li D, Cao B, Mei H, Ying B, Bin L, Smith FG, Jin SW. Maresin 1 attenuates mitochondrial dysfunction through the ALX/cAMP/ROS pathway in the cecal ligation and puncture mouse model and sepsis patients. *Lab Invest*. 2018 Jun;98(6):715-733. doi: 10.1038/s41374-018-0031-x. Epub 2018 Feb 21. PMID: 29467458.
- 119- Kain V, Ingle KA, Colas RA, Dalli J, Prabhu SD, Serhan CN, Joshi M, Halade GV. Resolvin D1 activates the inflammation resolving response at splenic and ventricular site following myocardial infarction leading to improved ventricular function. *J Mol Cell Cardiol*. 2015 Jul;84:24-35. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.04.003. Epub 2015 Apr 11. PMID: 25870158; PMCID: PMC4468047.
- 120- Blasbalg TL, Hibbeln JR, Ramsden CE, Majchrzak SF, Rawlings RR. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *Am J Clin Nutr*. 2011 May;93(5):950-62. doi: 10.3945/ajcn.110.006643. Epub 2011 Mar 2. PMID: 21367944; PMCID: PMC3076650.
- 121- Dylla SC, Balas L, Bazan NG, Brenna JT, Chiang N, da Costa Souza F, Dalli J, Durand T, Galano JM, Lein PJ, Serhan CN, Taha AY. Polyunsaturated fatty acids and fatty acid-derived lipid mediators: Recent advances in the understanding of their biosynthesis, structures, and functions. *Prog Lipid Res*. 2022 Apr;86:101165. doi: 10.1016/j.plipres.2022.101165. Epub 2022 May 1. PMID: 35508275; PMCID: PMC9346631.

- 122- Laaksonen DE, Nyyssönen K, Niskanen L, Rissanen TH, Salonen JT. Prediction of cardiovascular mortality in middle-aged men by dietary and serum linoleic and polyunsaturated fatty acids. *Arch Intern Med*. 2005 Jan 24;165(2):193-9. doi: 10.1001/archinte.165.2.193. PMID: 15668366.
- 123- van Gool CJ, Thijs C, Henquet CJ, van Houwelingen AC, Dagnelie PC, Schrandt J, Menheere PP, van den brandt PA. Gamma-linolenic acid supplementation for prophylaxis of atopic dermatitis--a randomized controlled trial in infants at high familial risk. *Am J Clin Nutr*. 2003 Apr;77(4):943-51. doi: 10.1093/ajcn/77.4.943. PMID: 12663296.
- 124- Jamal GA. Pathogenesis of diabetic neuropathy: the role of the n-6 essential fatty acids and their eicosanoid derivatives. *Diabet Med*. 1990 Aug;7(7):574-9. doi: 10.1111/j.1464-5491.1990.tb01451.x. PMID: 2146062.
- 125- Zurier RB, Rossetti RG, Jacobson EW, DeMarco DM, Liu NY, Temming JE, White BM, Laposata M. gamma-Linolenic acid treatment of rheumatoid arthritis. A randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*. 1996 Nov;39(11):1808-17. doi: 10.1002/art.1780391106. PMID: 8912502.
- 126- Yokoi K, Yanagimoto K, Hayamizu K. Supplementation of Dihomo- γ -Linolenic Acid for Pollen-Induced Allergic Symptoms in Healthy Subjects: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients*. 2023 Aug 5;15(15):3465. doi: 10.3390/nu15153465. PMID: 37571402; PMCID: PMC10421109.
- 127- Das UN. "Cell Membrane Theory of Senescence" and the Role of Bioactive Lipids in Aging, and Aging Associated Diseases and Their Therapeutic Implications. *Biomolecules*. 2021 Feb 8;11(2):241. doi: 10.3390/biom11020241. PMID: 33567774; PMCID: PMC7914625.
- 128- Park HG, Park WJ, Kothapalli KS, Brenna JT. The fatty acid desaturase 2 (FADS2) gene product catalyzes $\Delta 4$ desaturation to yield n-3 docosahexaenoic acid and n-6 docosapentaenoic acid in human cells. *FASEB J*. 2015 Sep;29(9):3911-9. doi: 10.1096/fj.15-271783. Epub 2015 Jun 11. PMID: 26065859; PMCID: PMC4550368.
- 129- Bokor S, Dumont J, Spinneker A, Gonzalez-Gross M, Nova E, Widhalm K, Moschonis G, Stehle P, Amouyel P, De Henauw S, Molnár D, Moreno LA, Meirhaeghe A, Dallongeville J; HELENA Study Group. Single nucleotide polymorphisms in the FADS gene cluster are associated with delta-5 and delta-6 desaturase activities estimated by serum fatty acid ratios. *J Lipid Res*. 2010 Aug;51(8):2325-33. doi: 10.1194/jlr.M006205. Epub 2010 Apr 28. PMID: 20427696; PMCID: PMC2903808.
- 130- Sen U, Coleman C, Sen T. Stearoyl coenzyme A desaturase-1: multitasker in cancer, metabolism, and ferroptosis. *Trends Cancer*. 2023;9(6):480–9. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2023.03.003>

- 131- Tosi F, Sartori F, Guarini P, Olivieri O, Martinelli N. Delta-5 and delta-6 desaturases: crucial enzymes in polyunsaturated fatty acid-related pathways with pleiotropic influences in health and disease. *Adv Exp Med Biol.* 2014;824:61-81. doi: 10.1007/978-3-319-07320-0_7. PMID: 25038994.
- 132- Das UN. Essential Fatty Acids and Their Metabolites in the Pathobiology of Inflammation and Its Resolution. *Biomolecules.* 2021 Dec 14;11(12):1873. doi: 10.3390/biom11121873. PMID: 34944517; PMCID: PMC8699107.
- 133- Lepage, G et al. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of Lipid Research*, 1986 Nov 1; Volume 27, Issue 1, 114 - 120. doi: 10.1016/S0022-2275(20)38861-1
- 134- Patel S, Patel S, Kotadiya A, Patel S, Shrimali B, Joshi N, et al. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. *Lab Anim Res [Internet].* 2024 [cited 2024 Mar 23];40(1):7. Available from: <https://doi.org/10.1186/s42826-024-00194-7> doi: 10.1186/s42826-024-00194-7
- 135- Nascimento JJ. he[dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo; 2022. 44-46p.
- 136- Valenzuela R, Barrera C, Espinosa A, Llanos P, Orellana P, Videla LA. Reduction in the desaturation capacity of the liver in mice subjected to high fat diet: Relation to LCPUFA depletion in liver and extrahepatic tissues. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015 Jul;98:7-14. doi: 10.1016/j.plefa.2015.04.002. Epub 2015 Apr 13. PMID: 25910408.
- 137- Warensjö E, Rosell M, Hellenius ML, Vessby B, De Faire U, Risérus U. Associations between estimated fatty acid desaturase activities in serum lipids and adipose tissue in humans: links to obesity and insulin resistance. *Lipids Health Dis.* 2009 Aug 27;8:37. doi: 10.1186/1476-511X-8-37. PMID: 19712485; PMCID: PMC2746208.
- 138- Cescon M, Carini R, Grazi G, Caraceni P, Alchera E, Gasloli G, Ravaioli M, Tuci F, Imarisio C, Dal Ponte C, Pertosa AM, Bernardi M, Pinna AD, Albano E. Variable activation of phosphoinositide 3-kinase influences the response of liver grafts to ischemic preconditioning. *J Hepatol.* 2009 May;50(5):937-47. doi: 10.1016/j.jhep.2008.11.016. Epub 2009 Jan 1. PMID: 19303157.
- 139- Franchello A, Gilbo N, David E, Ricchiuti A, Romagnoli R, Cerutti E, Salizzoni M. Ischemic preconditioning (IP) of the liver as a safe and protective technique against ischemia/reperfusion injury (IRI). *Am J Transplant.* 2009 Jul;9(7):1629-39. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02680.x. Epub 2009 Jun 10. PMID: 19519822.
- 140- Jassem W, Fuggle S, Thompson R, Arno M, Taylor J, Byrne J, Heaton N, Rela M. Effect of ischemic preconditioning on the genomic response to reperfusion injury in deceased donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009 Dec;15(12):1750-65. doi: 10.1002/lt.21936. PMID: 19938126.

- 141- Jakubauskiene L, Jakubauskas M, Stiegler P, Leber B, Schemmer P, Strupas K. Ischemic Preconditioning for Liver Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Visc Med.* 2021 Oct;37(5):329-337. doi: 10.1159/000516608. Epub 2021 Jun 7. PMID: 34722716; PMCID: PMC8543359.
- 142- Chu MJ, Vather R, Hickey AJ, Phillips AR, Bartlett AS. Impact of ischaemic preconditioning on experimental steatotic livers following hepatic ischaemia-reperfusion injury: a systematic review. *HPB (Oxford).* 2015 Jan;17(1):1-10. doi: 10.1111/hpb.12258. Epub 2014 Apr 9. PMID: 24712641; PMCID: PMC4266433.
- 143- Lin J, Huang H, Yang S, Duan J, Xu W, Zeng Z. Protective Effects of Ischemic Preconditioning Protocols on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Liver. *J Invest Surg.* 2020 Oct;33(9):876-883. doi: 10.1080/08941939.2018.1556753. Epub 2019 Mar 1. PMID: 30821527.
- 144- Montalvo-Jave EE, Piña E, Montalvo-Arenas C, Urrutia R, Benavente-Chenhalls L, Peña-Sanchez J, Geller DA. Role of ischemic preconditioning in liver surgery and hepatic transplantation. *J Gastrointest Surg.* 2009 Nov;13(11):2074-83. doi: 10.1007/s11605-009-0878-7. Epub 2009 Apr 30. PMID: 19404711.
- 145- Robertson FP, Fuller BJ, Davidson BR. An Evaluation of Ischaemic Preconditioning as a Method of Reducing Ischaemia Reperfusion Injury in Liver Surgery and Transplantation. *J Clin Med.* 2017 Jul 14;6(7):69. doi: 10.3390/jcm6070069. PMID: 28708111; PMCID: PMC5532577.
- 146- Deng Y, Zhao Z, Sheldon M, Zhao Y, Teng H, Martinez C, Zhang J, Lin C, Sun Y, Yao F, Curran MA, Zhu H, Ma L. LIFR regulates cholesterol-driven bidirectional hepatocyte-neutrophil cross-talk to promote liver regeneration. *Nat Metab.* 2024 Sep;6(9):1756-1774. doi: 10.1038/s42255-024-01110-y. Epub 2024 Aug 15. PMID: 39147934; PMCID: PMC11498095.
- 147- Miyazaki M, Bruggink SM, Ntambi JM. Identification of mouse palmitoyl-coenzyme A Delta9-desaturase. *J Lipid Res.* 2006 Apr;47(4):700-4. doi: 10.1194/jlr.C500025-JLR200. Epub 2006 Jan 27. PMID: 16443825.
- 148- Loukil I, Mutch DM, Plourde M. Genetic association between FADS and ELOVL polymorphisms and the circulating levels of EPA/DHA in humans: a scoping review. *Genes Nutr.* 2024 Jun 6;19(1):11. doi: 10.1186/s12263-024-00747-4. PMID: 38844860; PMCID: PMC11157910.
- 149- Ntambi JM, Miyazaki M. Recent insights into stearoyl-CoA desaturase-1. *Curr Opin Lipidol.* 2003 Jun;14(3):255-61. doi: 10.1097/00041433-200306000-00005. PMID: 12840656.

- 150- Godhamgaonkar AA, Wadhwani NS, Randhir KN, Selukar SS, Dalvi S, Dangat K, Wagh GN, Lalwani S, Chandhiok N, Kulkarni B, Fall C, Sachdev HPS, Gupte S, Joshi SR. Erythrocyte fatty acids and desaturase indices in early pregnancy are associated with risk of preeclampsia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2023 Sep;196:102583. doi: 10.1016/j.plefa.2023.102583. Epub 2023 Jul 21. PMID: 37531787.
- 151- Bogie JFJ, Grajchen E, Wouters E, Corrales AG, Dierckx T, Vanherle S, Mailleux J, Gervois P, Wolfs E, Dehairs J, Van Broeckhoven J, Bowman AP, Lambrichts I, Gustafsson JÅ, Remaley AT, Mulder M, Swinnen JV, Haidar M, Ellis SR, Ntambi JM, Zelcer N, Hendriks JJA. Stearoyl-CoA desaturase-1 impairs the reparative properties of macrophages and microglia in the brain. *J Exp Med*. 2020 May 4;217(5):e20191660. doi: 10.1084/jem.20191660. PMID: 32097464; PMCID: PMC7201924.
- 152- Knez M, Pantovic A, Tako E, Boy E. FADS1 and FADS2 as biomarkers of Zn status - a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2024;64(11):3187-3205. doi: 10.1080/10408398.2022.2103790. Epub 2022 Jul 26. PMID: 35880429.
- 153- Stawarska A, Lepionka T, Białek A, Gawryjolek M, Bobrowska-Korczak B. Pomegranate Seed Oil and Bitter Melon Extract Affect Fatty Acids Composition and Metabolism in Hepatic Tissue in Rats. *Molecules*. 2020 Nov 10;25(22):5232. doi: 10.3390/molecules25225232. PMID: 33182664; PMCID: PMC7697534.
- 154- Arai K, Koba S, Yokota Y, Tsunoda F, Tsujita H, Kondo S, Tsukamoto S, Shoji M, Shinke T. Relationships of Fatty Acids, Delta-5 Desaturase Activity, and Lipid Profiles in Men with Acute Coronary Syndrome. *J Atheroscler Thromb*. 2020 Nov 1;27(11):1216-1229. doi: 10.5551/jat.55780. Epub 2020 Jun 27. PMID: 32595194; PMCID: PMC7803831.
- 155- Kjellqvist S, Klose C, Surma MA, Hindy G, Mollet IG, Johansson A, Chavaux P, Gottfries J, Simons K, Melander O, Fernandez C. Identification of Shared and Unique Serum Lipid Profiles in Diabetes Mellitus and Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc*. 2016 Nov 29;5(12):e004503. doi: 10.1161/JAHA.116.004503. PMID: 27899364; PMCID: PMC5210412.
- 156- Feng L, Yang J, Liu W, Wang Q, Wang H, Shi L, Fu L, Xu Q, Wang B, Li T. Lipid Biomarkers in Acute Myocardial Infarction Before and After Percutaneous Coronary Intervention by Lipidomics Analysis. *Med Sci Monit*. 2018 Jun 18;24:4175-4182. doi: 10.12659/MSM.908732. PMID: 29913478; PMCID: PMC6038721.
- 157- Erpicum P, Rowart P, Defraigne JO, Krzesinski JM, Jouret F. What we need to know about lipid-associated injury in case of renal ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2018 Dec 1;315(6):F1714-F1719. doi: 10.1152/ajprenal.00322.2018. Epub 2018 Oct 17. PMID: 30332314.
- 158- Bagchi AK, Surendran A, Malik A, Jassal DS, Ravandi A, Singal PK. IL-10 attenuates OxPCs-mediated lipid metabolic responses in ischemia reperfusion injury. *Sci Rep*. 2020 Jul

21;10(1):12120. doi: 10.1038/s41598-020-68995-z. PMID: 32694752; PMCID: PMC7374703.

159- Todorović Z, Đurašević S, Stojković M, Grigorov I, Pavlović S, Jasnić N, Tosti T, Macut JB, Thiemermann C, Đorđević J. Lipidomics Provides New Insight into Pathogenesis and Therapeutic Targets of the Ischemia-Reperfusion Injury. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 10;22(6):2798. doi: 10.3390/ijms22062798. PMID: 33801983; PMCID: PMC7999969.

160- Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, Cheng PW, Li CY, Li CJ. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(4):1650-1667. doi: 10.1159/000489241. Epub 2018 Apr 20. PMID: 29694958.

161- Gan AM, Tracz-Gaszewska Z, Ellert-Miklaszewska A, Navrulin VO, Ntambi JM, Dobrzyn P. Stearoyl-CoA Desaturase Regulates Angiogenesis and Energy Metabolism in Ischemic Cardiomyocytes. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 9;23(18):10459. doi: 10.3390/ijms231810459. PMID: 36142371; PMCID: PMC9499489.

162- Gromovsky AD, Schugar RC, Brown AL, Helsley RN, Burrows AC, Ferguson D, Zhang R, Sansbury BE, Lee RG, Morton RE, Allende DS, Parks JS, Spite M, Brown JM. Δ -5 Fatty Acid Desaturase *FADS1* Impacts Metabolic Disease by Balancing Proinflammatory and Proresolving Lipid Mediators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018 Jan;38(1):218-231. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309660. Epub 2017 Oct 26. PMID: 29074585; PMCID: PMC5746431.

163- Tang L, Li J, Fu W, Wu W, Xu J. Suppression of FADS1 induces ROS generation, cell cycle arrest, and apoptosis in melanocytes: implications for vitiligo. *Aging (Albany NY)*. 2019 Dec 21; 11:11829-11843 . <https://doi.org/10.18632/aging.102452>

164- Stoffel W, Holz B, Jenke B, Binczek E, Günter RH, Kiss C, Karakesisoglou I, Thevis M, Weber AA, Arnhold S, Addicks K. Delta6-desaturase (FADS2) deficiency unveils the role of omega3- and omega6-polyunsaturated fatty acids. *EMBO J*. 2008 Sep 3;27(17):2281-92. doi: 10.1038/emboj.2008.156. PMID: 19172737; PMCID: PMC2529369.

165- Kosmalski M, Pękala-Wojciechowska A, Sut A, Pietras T, Luzak B. Dietary Intake of Polyphenols or Polyunsaturated Fatty Acids and Its Relationship with Metabolic and Inflammatory State in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutrients*. 2022 Mar 4;14(5):1083. doi: 10.3390/nu14051083. PMID: 35268058; PMCID: PMC8912460.

166- González-Becerra K, Ramos-Lopez O, Barrón-Cabrera E, Riezu-Boj JI, Milagro FI, Martínez-López E, Martínez JA. Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: a systematic review. *Lipids Health Dis*. 2019 Oct 15;18(1):178. doi: 10.1186/s12944-019-1120-6. PMID: 31615571; PMCID: PMC6792183.

167- Walchuk C, Wang Y, Suh M. The impact of EPA and DHA on ceramide lipotoxicity in the metabolic syndrome. *Br J Nutr*. 2021 Apr 28;125(8):863-875. doi: 10.1017/S0007114520003177. Epub 2020 Aug 14. PMID: 32792029.

- 168- Jiang H, Wang L, Wang D, Yan N, Li C, Wu M, Wang F, Mi B, Chen F, Jia W, Liu X, Lv J, Liu Y, Lin J, Ma L. Omega-3 polyunsaturated fatty acid biomarkers and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, cancer, and mortality. *Clin Nutr*. 2022 Aug;41(8):1798-1807. doi: 10.1016/j.clnu.2022.06.034. Epub 2022 Jun 30. PMID: 35830775.
- 169- Christie WW, Harwood JL. Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays Biochem*. 2020 Sep 23;64(3):401-421. doi: 10.1042/EBC20190082. PMID: 32618335; PMCID: PMC7517362.
- 170- Al-Shaer AE, Buddenbaum N, Shaikh SR. Polyunsaturated fatty acids, specialized pro-resolving mediators, and targeting inflammation resolution in the age of precision nutrition. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2021 Jul;1866(7):158936. doi: 10.1016/j.bbalip.2021.158936. Epub 2021 Mar 29. PMID: 33794384; PMCID: PMC8496879.
- 171- Dossi C, González D, Romero N, Silva D, Videla L, Tapia G. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Rosa Mosqueta oil supplementation in rat liver ischemia-reperfusion [Internet]. Santiago, Chile: Universidad de Chile - ; 2018 [citado: 2025, mayo]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/167648>
- 172- Xue H, Nie H, Huang Z, Lu B, Wei M, Xu H, Ji L. 2,3,5,4'-tetrahydroxy-stilbene-2-O- β -D-glucoside promotes liver regeneration after partial hepatectomy in mice: The potential involvement of PPAR α -mediated fatty acid metabolism. *J Ethnopharmacol*. 2024 Nov 15;334:118513. doi: 10.1016/j.jep.2024.118513. Epub 2024 Jul 4. PMID: 38969151.
- 173- Zúñiga J, Cancino M, Medina F, Varela P, Vargas R, Tapia G, Videla LA, Fernández V. N-3 PUFA supplementation triggers PPAR- α activation and PPAR- α /NF- κ B interaction: anti-inflammatory implications in liver ischemia-reperfusion injury. *PLoS One*. 2011;6(12):e28502. doi: 10.1371/journal.pone.0028502. Epub 2011 Dec 8. PMID: 22174823; PMCID: PMC3234278.
- 174- Tang D, Fu G, Li W, Sun P, Loughran PA, Deng M, Scott MJ, Billiar TR. Maresin 1 protects the liver against ischemia/reperfusion injury via the ALXR/Akt signaling pathway. *Mol Med*. 2021 Feb 25;27(1):18. doi: 10.1186/s10020-021-00280-9. PMID: 33632134; PMCID: PMC7905895.
- 175- Aydin M, Dirik Y, Demir C, Tolunay HE, Demir H. Can we reduce oxidative stress with liver transplantation? *J Med Biochem*. 2021 Sep 3;40(4):351-357. doi: 10.5937/jomb0-29983. PMID: 34616224; PMCID: PMC8451230.
- 176- Céspedes N, Tamayo A, Rodriguez MJ, Zúñiga-Hernández J. EPA plus DHA improves survival related to a decrease of injury after extended liver ischemia in Sprague-Dawley rats. *Ann Hepatol*. 2020 Mar-Apr;19(2):172-178. doi: 10.1016/j.aohp.2019.09.003. Epub 2019 Oct 23. PMID: 31711915.

- 177- Cao C, Zhang Y, Cheng J, Wu F, Niu X, Hu X, Duan X, Fu X, Zhang J, Zhang X, Ao Y. β -Arrestin2 Inhibits the Apoptosis and Facilitates the Proliferation of Fibroblast-like Synoviocytes in Diffuse-type Tenosynovial Giant Cell Tumor. *Cancer Genomics Proteomics*. 2021 May-Jun;18(3 Suppl):461-470. doi: 10.21873/cgp.20272. PMID: 33994368; PMCID: PMC8240045.
- 178- Soto G, Rodríguez MJ, Fuentealba R, Treuer AV, Castillo I, González DR, Zúñiga-Hernández J. Maresin 1, a Proresolving Lipid Mediator, Ameliorates Liver Ischemia-Reperfusion Injury and Stimulates Hepatocyte Proliferation in Sprague-Dawley Rats. *Int J Mol Sci*. 2020 Jan 15;21(2):540. doi: 10.3390/ijms21020540. PMID: 31952110; PMCID: PMC7014175.
- 179- Wu J, Liu Q, Zhang X, Wu X, Zhao Y, Ren J. STING-dependent induction of lipid peroxidation mediates intestinal ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2021 Feb 1;163:135-140. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.010. Epub 2020 Dec 18. PMID: 33347986.
- 180- Kim TH, Hur EG, Kang SJ, Kim JA, Thapa D, Lee YM, Ku SK, Jung Y, Kwak MK. NRF2 blockade suppresses colon tumor angiogenesis by inhibiting hypoxia-induced activation of HIF-1 α . *Cancer Res*. 2011 Mar 15;71(6):2260-75. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3007. Epub 2011 Jan 28. PMID: 21278237.
- 181- Zhang X, Du P, Luo K, Li Y, Liu Z, Wang W, Zeng C, Ye Q, Xiao Q. Hypoxia-inducible factor-1 α protects the liver against ischemia-reperfusion injury by regulating the A2B adenosine receptor. *Bioengineered*. 2021 Dec;12(1):3737-3752. doi: 10.1080/21655979.2021.1953217. PMID: 34288817; PMCID: PMC8806673.
- 182- Li Z, Wang Y, Zhang Y, Wang X, Gao B, Li Y, Li R, Wang J. Protective Effects of Fisetin on Hepatic Ischemia-reperfusion Injury Through Alleviation of Apoptosis and Oxidative Stress. *Arch Med Res*. 2021 Feb;52(2):163-173. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.10.009. Epub 2020 Oct 21. PMID: 33645502.
- 183- Gobbetti T, Le Faouder P, Bertrand J, Dubourdeau M, Barocelli E, Cenac N, Vergnolle N. Polyunsaturated fatty acid metabolism signature in ischemia differs from reperfusion in mouse intestine. *PLoS One*. 2013 Sep 20;8(9):e75581. doi: 10.1371/journal.pone.0075581. PMID: 24073272; PMCID: PMC3779198.
- 184- Bratslavsky G, Kogan BA, Matsumoto S, Aslan AR, Levin RM. Reperfusion injury of the rat bladder is worse than ischemia. *J Urol*. 2003 Nov;170(5):2086-90. doi: 10.1097/01.ju.0000092144.48045.13. PMID: 14532859.
- 185- Cowled P, Fitridge R. Pathophysiology of Reperfusion Injury. In: Fitridge R, Thompson M, editors. *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists* [Internet]. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011. 18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534267/>

- 186- Soares ROS, Losada DM, Jordani MC, Évora P, Castro-E-Silva O. Ischemia/Reperfusion Injury Revisited: An Overview of the Latest Pharmacological Strategies. *Int J Mol Sci*. 2019 Oct 11;20(20):5034. doi: 10.3390/ijms20205034. PMID: 31614478; PMCID: PMC6834141.
- 187- Chen H, Qin J, Wei P, Zhang J, Li Q, Fu L, Li S, Ma C, Cong B. Effects of leukotriene B4 and prostaglandin E2 on the differentiation of murine Foxp3+ T regulatory cells and Th17 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2009 Apr;80(4):195-200. doi: 10.1016/j.plefa.2009.01.006. Epub 2009 Mar 4. PMID: 19264469.
- 188- Das UN. Can Bioactive Lipid Arachidonic Acid Prevent and Ameliorate COVID-19? *Medicina (Kaunas)*. 2020 Aug 19;56(9):418. doi: 10.3390/medicina56090418. PMID: 32825011; PMCID: PMC7560027.
- 189- Poloso NJ, Urquhart P, Nicolaou A, Wang J, Woodward DF. PGE2 differentially regulates monocyte-derived dendritic cell cytokine responses depending on receptor usage (EP2/EP4). *Mol Immunol*. 2013 Jul;54(3-4):284-95. doi: 10.1016/j.molimm.2012.12.010. Epub 2013 Jan 20. PMID: 23337716.
- 190- Zhang S, Liu Y, Zhang X, Zhu D, Qi X, Cao X, Fang Y, Che Y, Han ZC, He ZX, Han Z, Li Z. Prostaglandin E2 hydrogel improves cutaneous wound healing via M2 macrophages polarization. *Theranostics*. 2018 Oct 22;8(19):5348-5361. doi: 10.7150/thno.27385. PMID: 30555551; PMCID: PMC6276096.
- 191- Bi C, Fu Y, Zhang Z, Li B. Prostaglandin E2 confers protection against diabetic coronary atherosclerosis by stimulating M2 macrophage polarization via the activation of the CREB/BDNF/TrkB signaling pathway. *FASEB J*. 2020 Jun;34(6):7360-7371. doi: 10.1096/fj.201902055R. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32350920.
- 192- Chandrasekharan, J.A., & Sharma-Walia, N. (2015). Lipoxins: nature's way to resolve inflammation. *Journal of inflammation research*, 8, 181-192. <http://doi.org/10.2147/JIR.S90380>
- 193- Loynes CA, Lee JA, Robertson AL, Steel MJ, Ellett F, Feng Y, Levy BD, Whyte MKB, Renshaw SA. PGE2 production at sites of tissue injury promotes an anti-inflammatory neutrophil phenotype and determines the outcome of inflammation resolution in vivo. *Sci Adv*. 2018 Sep 5;4(9):eaar8320. doi: 10.1126/sciadv.aar8320. PMID: 30191175; PMCID: PMC6124908.
- 194- Chan MM, Moore AR. Resolution of inflammation in murine autoimmune arthritis is disrupted by cyclooxygenase-2 inhibition and restored by prostaglandin E2-mediated lipoxin A4 production. *J Immunol*. 2010 Jun 1;184(11):6418-26. doi: 10.4049/jimmunol.0903816. Epub 2010 Apr 30. PMID: 20435922; PMCID: PMC3032587.
- 195- Duffin R, O'Connor RA, Crittenden S, Forster T, Yu C, Zheng X, Smyth D, Robb CT, Rossi F, Skouras C, Tang S, Richards J, Pellicoro A, Weller RB, Breyer RM, Mole DJ, Iredale JP, Anderton SM, Narumiya S, Maizels RM, Ghazal P, Howie SE, Rossi AG, Yao C.

Prostaglandin E₂ constrains systemic inflammation through an innate lymphoid cell-IL-22 axis. *Science*. 2016 Mar 18;351(6279):1333-8. doi: 10.1126/science.aad9903. PMID: 26989254; PMCID: PMC4841390.

196- Angsana J, Chen J, Liu L, Haller CA, Chaikof EL. Efferocytosis as a regulator of macrophage chemokine receptor expression and polarization. *Eur J Immunol*. 2016 Jul;46(7):1592-9. doi: 10.1002/eji.201546262. Epub 2016 May 20. PMID: 27139187; PMCID: PMC5036921.

197- Hu T, Tie C, Wang Z, Zhang JL. Highly sensitive and specific derivatization strategy to profile and quantitate eicosanoids by UPLC-MS/MS. *Anal Chim Acta*. 2017 Jan 15;950:108-118. doi: 10.1016/j.aca.2016.10.046. Epub 2016 Nov 15. PMID: 27916115.

198- Jenkins CM, Cedars A, Gross RW. Eicosanoid signalling pathways in the heart. *Cardiovasc Res*. 2009 May 1;82(2):240-9. doi: 10.1093/cvr/cvn346. Epub 2008 Dec 14. PMID: 19074824; PMCID: PMC2675928.

199- Du Y, Taylor CG, Aukema HM, Zahradka P. Role of oxylipins generated from dietary PUFAs in the modulation of endothelial cell function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2020 Sep;160:102160. doi: 10.1016/j.plefa.2020.102160. Epub 2020 Jul 19. PMID: 32717531.

200- Sinzinger H, Virgolini I, Fitscha P, Rauscha F, Kaliman J. Stabilization of endothelial lining and decrease in circulating endothelial cells--one mechanism underlying the clinical action of PGE1? *Br J Clin Pharmacol*. 1988 Jun;25(6):775-6. doi: 10.1111/j.1365-2125.1988.tb05268.x. PMID: 3203048; PMCID: PMC1386459.

201- Sinzinger H, Fitscha P, Kritz H, Rogatti W, Grady JO. Prostaglandin E1 decreases circulating endothelial cells. *Prostaglandins*. 1996 Jan;51(1):61-8. doi: 10.1016/0090-6980(95)00157-3. PMID: 8900444.

202- Ohno K, Fujimoto M, Hirata M. Protective effect of prostaglandin A2 against menadione-induced cell injury in cultured porcine aorta endothelial cells. *Chem Biol Interact*. 1991;78(1):67-75. doi: 10.1016/0009-2797(91)90103-e. PMID: 2009581.

203- Weiss JM, Pilarski KA, Weyl A, Peschen M, Schöpf E, Vestweber D, Vanscheidt W, Simon JC. Prostaglandin E1 inhibits TNF alpha-induced T-cell adhesion to endothelial cells by selective down-modulation of ICAM-1 expression on endothelial cells. *Exp Dermatol*. 1995 Oct;4(5):302-7. doi: 10.1111/j.1600-0625.1995.tb00209.x. PMID: 8589921.

204- Fang W, Li H, Zhou L, Su L, Liang Y, Mu Y. Effect of prostaglandin E1 on TNF-induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells. *Can J Physiol Pharmacol*. 2010 May;88(5):576-83. doi: 10.1139/y10-028. PMID: 20555427.

- 205- Fantone JC, Kunkel SL, Ward PA, Zurier RB. Suppression by prostaglandin E1 of vascular permeability induced by vasoactive inflammatory mediators. *J Immunol.* 1980 Dec;125(6):2591-6. PMID: 7430639.
- 206- Lindemann, S., Gierer, C. & Darius, H. Prostacyclin inhibits adhesion of polymorphonuclear leukocytes to human vascular endothelial cells due to adhesion molecule independent regulatory mechanisms. *Basic Res Cardiol* **98**, 8–15 (2003). <https://doi.org/10.1007/s00395-003-0383-1>
- 207- Lou J, Bühler L, Deng S, Mentha G, Montesano R, Grau GE, Morel P. Inhibition of leukocyte adherence and transendothelial migration in cultured human liver vascular endothelial cells by prostaglandin E1. *Hepatology.* 1998 Mar;27(3):822-8. doi: 10.1002/hep.510270326. PMID: 9500713.
- 208- Yang H, Majno P, Morel P, Toso C, Triponez F, Oberholzer J, Mentha G, Lou J. Prostaglandin E(1) protects human liver sinusoidal endothelial cell from apoptosis induced by hypoxia reoxygenation. *Microvasc Res.* 2002 Jul;64(1):94-103. doi: 10.1006/mvre.2002.2404. PMID: 12074635.
- 209- Yeung J, Tourdot BE, Adili R, Green AR, Freedman CJ, Fernandez-Perez P, Yu J, Holman TR, Holinstat M. 12(S)-HETrE, a 12-Lipoxygenase Oxylin of Dihomo- γ -Linolenic Acid, Inhibits Thrombosis via Gas Signaling in Platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016 Oct;36(10):2068-77. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308050. Epub 2016 Jul 28. PMID: 27470510; PMCID: PMC5488693.
- 210- Laura Sampaio Salomão, Silvia Barbosa Young and Maria Aparecida Galhardo et al. Avaliação da regeneração hepática com modulação pelo pré-condicionamento isquêmico após isquemia e reperfusão e hepatectomia parcial. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões.* 2012. Vol. 39(3):211-215. DOI: 10.1590/S0100-69912012000300009
- 211- Abdel-Razek HA, Rizk MS, Amer GS, Kora MA, Afifi AM, Donia SS. Impact of combined ischemic preconditioning and melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2023 Feb;26(2):235-240. doi: 10.22038/IJBMS.2022.67127.14722. PMID: 36742133; PMCID: PMC9869875.
- 212- Fernández L, Carrasco-Chaumel E, Serafin A, Xaus C, Grande L, Rimola A, Roselló-Catafau J, Peralta C. Is ischemic preconditioning a useful strategy in steatotic liver transplantation? *Am J Transplant.* 2004 Jun;4(6):888-99. doi: 10.1111/j.1600-6143.2004.00447.x. PMID: 15147422.
- 213- Gomez D, Homer-Vanniasinkam S, Graham AM, Prasad KR. Role of ischaemic preconditioning in liver regeneration following major liver resection and transplantation. *World J Gastroenterol.* 2007 Feb 7;13(5):657-70. doi: 10.3748/wjg.v13.i5.657. PMID: 17278187; PMCID: PMC4065997.

AXEXO A - PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO CEUA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ
Centro de Ciências da Saúde - CCS

Rio de Janeiro, 28 de junho de 2021

Prezado Professor Joaquim Ribeiro Filho,

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) em Experimentação Científica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro registrada no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sob o número de processo 01200.001568/2013-87 certifica que o projeto intitulado: **“Avaliação dos mediadores lipídicos de inflamação no remanescente hepático de baixo volume em fígado pré condicionado.” protocolo nº 028/21**, sob sua responsabilidade que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais para fins de pesquisa científica (ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado por esta comissão de ética, em reunião do dia **23/06/2021**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do Projeto	Até 01/12/2021
Espécie/linhagem	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	30 animais
Peso/idade	170-250g/ 6 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Centro de Cirurgia Experimental da UFRJ

Atenciosamente;

Prof. Marcel Frajblat
 Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais - CCS