

# Ácido acetilsalicílico (Aspirina®) e regeneração hepática: estudo experimental em ratos

## Acetylsalicylic acid (Aspirin®) and liver regeneration: experimental study in rats

MARIA DE LOURDES PESSOLE BIONDO-SIMÕES<sup>1</sup>; VÍCTOR CEZAR DE AZEVEDO PESSINI<sup>2</sup>; CAROLINA AYUMI ICHI<sup>3</sup> ; ROGÉRIO RIBEIRO ROBES<sup>4</sup>; SÉRGIO IOSHII<sup>5</sup>.

### R E S U M O

**Objetivo:** avaliar a influência do ácido acetilsalicílico (AAS) na proliferação celular após hepatectomia parcial em ratos. **Métodos:** 40 ratos Wistar machos foram separados em quatro grupos com dez ratos cada. Grupos 1 e 2 (controles): submetidos à hepatectomia parcial de 30% e, após um (grupo 1) e sete dias (grupo 2), à eutanásia; administração diária de solução fisiológica 0,9% (1mL por 200g de peso). Grupos 3 e 4 (experimentos): submetidos à hepatectomia parcial de 30% e, após um (grupo 3) e sete dias (grupo 4), à eutanásia; administração diária de AAS (40mg/mL, 1mL por 200g de peso). Realizou-se a contagem do número absoluto de células coradas com PCNA em fotomicrografias, em cinco campos e cálculo da média de células positivas por animal e por grupo. **Resultados:** A média final de células PCNA+ por grupo foi: no grupo 1, de  $17,57 \pm 6,77$ ; no grupo 2 de  $19,31 \pm 5,30$ ; no grupo 3, de  $27,46 \pm 11,55$ ; e, no grupo 4, de  $12,40 \pm 5,23$ . Não houve diferença significativa nos dois tempos de avaliação no grupo controle ( $p=0,491$ ), mas houve no grupo experimento ( $p=0,020$ ), observando-se menor número de células PCNA+ no sétimo dia. A comparação entre os dois grupos, no primeiro dia, mostrou mais células PCNA+ nos fígados dos animais que receberam AAS ( $p=0,047$ ), e no sétimo dia o número foi menor no grupo experimento ( $p=0,007$ ). **Conclusão:** O AAS induziu maior proliferação hepatocitária.

**Palavras-chave:** Regeneração Hepática. Aspirina. Hepatectomia.

### INTRODUÇÃO

Uma das principais características do fígado é a capacidade de regeneração. Entretanto, a resposta primária do órgão frente a diferentes lesões nem sempre é essa, podendo concorrer com fibrose e necrose hepatocitária<sup>1</sup>. A fibrose hepática resulta de resposta sustentada às lesões hepáticas crônicas e à trombose de vasos intra-hepáticos, que estimulam a secreção exacerbada da matriz extracelular pelas células estreladas<sup>2</sup>. A necrose ocorre em contextos de lesões hipoxêmicas ou tóxicas graves, situações nas quais as células hepáticas, incapazes de manter as funções homeostáticas básicas, perdem a integridade<sup>3</sup>.

O fígado apresenta capacidade única de regeneração. Mesmo após remoção de 70% da massa

total, o tecido remanescente é capaz de crescer, recuperando volume e função originais<sup>4</sup>. Esse processo depende de uma série de citocinas e fatores de crescimento, que estimulam a angiogênese e coordenam a hipertrofia e a hiperplasia dos hepatócitos.

As plaquetas parecem apresentar dualidade de papéis na regeneração hepática: liberam citocinas pró e anti-fibróticas, podendo tanto exacerbar a fibrose parenquimatosa e prejudicar a regeneração, quanto suprimir essa fibrogênese e estimular o processo regenerativo<sup>5</sup>. Além disso, a formação de microtrombos no sistema venoso hepático mediada pela agregação plaquetária é associada à atrofia e à fibrose hepáticas em fígados transplantados<sup>6</sup>. Por isso, sugere-se que terapias anti-trombogênicas possam exercer alguma influência na redução da fibrose hepática, nesses casos<sup>7</sup>.

1 - Universidade Federal do Paraná (UFPR), Departamento de Cirurgia - Curitiba - PR - Brasil 2 - Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Curitiba - PR - Brasil 3 - Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Curitiba - PR - Brasil 4 - Universidade Federal do Paraná (UFPR), Departamento de Veterinária - Curitiba - PR - Brasil 5 - Universidade Federal do Paraná (UFPR), Departamento de Anatomia Patológica - Curitiba - PR - Brasil

O ácido acetilsalicílico (AAS), assim como outros medicamentos antiplaquetários, parece exercer papel importante na modulação da fibrose hepática<sup>7</sup>. O AAS é um anti-inflamatório com propriedade de antiagregação plaquetária amplamente utilizado na prática clínica. O principal mecanismo de ação é a inibição da enzima ciclo-oxigenase (COX), a qual converte o ácido aracdônico em prostaglandinas<sup>8</sup>, substratos da síntese de tromboxano A<sub>2</sub>, composto produzido pelas plaquetas e responsável pela agregação plaquetária<sup>9</sup>.

A influência do AAS na progressão da fibrose hepática e o papel na progressão de doenças hepáticas crônicas são temas amplamente abordados na literatura. Estudos mostram que o tratamento com AAS pode estar associado a menor risco de progressão de fibrose hepática, à redução no risco de desenvolvimento de hepatocarcinoma e de mortalidade por doenças hepáticas crônicas<sup>10-13</sup>.

A maioria dos estudos aborda o uso do fármaco na progressão da fibrose de fígados já cirróticos<sup>14-17</sup>, sendo a função do AAS pouco compreendida na regeneração hepática de fígados saudáveis. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da administração de ácido acetilsalicílico na regeneração hepática em modelo de hepatectomia parcial em ratos Wistar hígdos, machos (não-cirróticos), levando em conta os efeitos anti-inflamatório e antiagregante plaquetário.

## MÉTODOS

Submeteu-se o projeto ao Comitê de Ética para o Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas (CEUA-BIO) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) que aprovado recebeu o registro 23075.045830/2018-25, pelo protocolo nº 1214.

A amostra consistiu-se de 40 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem Wistar, com idade entre 100 e 120 dias e peso entre 300 gramas e 480 gramas, com média de 399 ± 53,84 gramas. Os animais foram alojados no Laboratório da Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental da UFPR onde permaneceram no período de quarentena e de todo o experimento. O tamanho da amostra foi calculado com base em trabalhos anteriores com linha de pesquisa semelhante, aprovados pelo CEUA-BIO<sup>18,19</sup>.

Manteve-se a temperatura em 20 ± 2 graus centígrados, as trocas de ar próprias do ambiente e a luminosidade segundo ciclos de claro e escuro de 12 horas. Os animais ficaram em caixas de polipropileno, próprias para a espécie, contendo maravalha branca (trocada diariamente), em número de cinco animais por caixa. Receberam água e ração padrão comercial, próprias para a espécie, *ad libitum*.

Separou-se a amostra, randomicamente, em quatro grupos, com dez ratos cada. Os animais dos grupos 1 e 2 constituíram os controles e os dos grupos 3 e 4, os experimentos. Todos foram submetidos à hepatectomia parcial. Os animais dos grupos controle receberam, diariamente, solução de cloreto de sódio, 0,9%, 1mL por 200g de peso corporal, por gavagem, e os dos grupos experimentos, ácido acetilsalicílico 40mg/mL, 1mL por 200 gramas de peso corporal<sup>20</sup>. Os animais dos grupos 1 e 3 foram submetidos à eutanásia após 24 horas da intervenção e os dos grupos 2 e 4, no sétimo dia após a intervenção. A medicação foi iniciada um dia antes da intervenção e foi mantida até à eutanásia.

Realizou-se hepatectomia parcial segundo método de Higgins e Anderson (1931)<sup>21</sup> modificado, com ressecção de aproximadamente 30% do fígado. A anestesia, ministrada por veterinário-anestesta, contemplou injeção intramuscular de cloridrato de cetamina (50mg/kg) e cloridrato de xilazina (20mg/kg), complementada com indução via inalatória com isoflurano 1 a 1,5% sob máscara associada a oxigênio 100%. Realizou-se tricotomia da parede abdominal ventral, antisepsia com polivinilpirrolidona-iodo (PVP-I) e incisão mediana de quatro centímetros. Seccionou-se o *ligamentum teres hepatis*, isolando-se o lobo lateral esquerdo, o qual, após ligadura com fio algodão 4.0, foi ressecado. Posteriormente à revisão da hemostasia, procedeu-se à laparorráfia em dois planos, o primeiro, peritônio-músculo-aponeurótico e o segundo, o da pele, com síntese em chuleio contínuo com fio monofilamentar de náilon 4.0. Utilizou-se Dipirona intra-muscular (10mg/kg), para a analgesia.

Após o período determinado para cada grupo, realizou-se a eutanásia, sob vigência de anestesia, conforme protocolo descrito nas Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA (2013)<sup>22</sup> e Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais do Conselho Federal

de Medicina Veterinária (2013). Realizou-se a indução anestésica com isoflurano inalatório e administrou-se, por via intra-venosa, solução de thiopental sódico (10mg/kg), seguida de punção cardíaca para administração de solução 10% de cloreto de potássio (5mg/kg).

A coleta do fígado remanescente iniciou-se com a tricotomia e a antissepsia da parede abdominal. Seguiu-se a abertura da cavidade com incisão em “U” que, quando rebatida cranialmente, permitia a exposição e a ressecção total do órgão.

Fixaram-se as peças ressecadas em formalina tamponada 10%, enviando-as para análise histológica. Prepararam-se cortes de quatro micrômetros de espessura para coloração com imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal primário anti-antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) com técnica de strepto-avidina-biotina-peroxidase.

A análise da proliferação celular deu-se a partir da contagem do número absoluto de células marcadas pelo anti-PCNA (células PCNA+) em fotomicrografias dos cortes histológicos e posterior cálculo da média de células positivas por animal e por grupo. Utilizou-se o software *ZEN Blue* (Carl Zeiss Microimaging, Jena, Germany) para a contagem das células. Para cada animal, foram confeccionadas quatro lâminas e, em cada lâmina, analisaram-se, com amplificação de 400x, cinco campos de área 4,84cm<sup>2</sup>, randomicamente marcados. A contagem fez-se por dois observadores independentes

e, caso constatada diferença interobservadores maior do que 30% entre as médias finais para o grupo, procedeu-se a análise por um terceiro observador.

Submeteram-se os dados à análise estatística pelos testes não-paramétricos de Mann-Whitney bicaudal para comparação entre os grupos 1 versus 3 e 2 versus 4; e Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos 1 versus 2 e 3 versus 4, adotando-se  $p < 0,05$  (5%) como nível de significância.

## RESULTADOS

Houve dois óbitos nos grupos 2 e 4, e três óbitos nos grupos 1 e 3. Um animal do grupo 1 e outro do grupo 3 foram excluídos da análise estatística por artefato de técnica na preparação histológica. A amostra final compôs-se de 28 animais, distribuídos da seguinte forma: grupo 1 (seis animais), grupo 2 (oito animais), grupo 3 (seis animais), grupo 4 (oito animais).

A média de células PCNA+ entre todos os grupos variou de 7,10 a 44,70, com média total de  $18,60 \pm 8,74$ . A média de células PCNA+ por animal variou, dentro do grupo 1, entre 11,32 e 26,20, com média final do grupo de  $17,57 \pm 6,77$ ; dentro do grupo 2, entre 13,90 e 27,67, com média de  $19,31 \pm 5,30$ ; dentro do grupo 3, entre 15,28 e 44,70, com média de  $27,46 \pm 11,55$ ; e, dentro grupo 4, entre 7,10 e 22,60, com média de  $12,40 \pm 5,23$  (Tabela 1, Figuras 1 e 2).

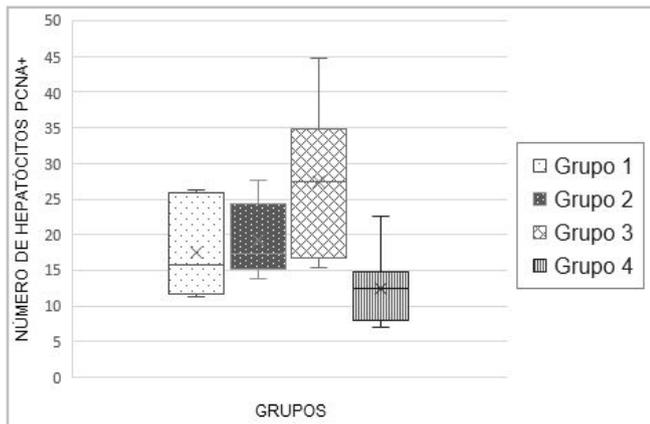
## Apêndice

**Tabela 1.** Células Hepáticas PCNA +.

	GRUPOS			
	1	2	3	4
	14,67	23,60	21,47	7,70
	11,32	17,40	15,28	7,10
	25,85	14,30	44,70	8,20
	11,60	24,97	16,80	16,67
	15,75	16,55	34,80	11,40
	26,20	16,07	31,70	22,60
		27,67		12,43
		13,90		13,10
Média	17,57	19,31	27,46	12,40

Desv.Pad.	6,77	5,30	11,55	5,23
% do Desv.Pad	38,53	27,45	44,03	42,78
Máximo	26,20	27,67	44,70	22,60
Mínimo	11,32	13,90	15,28	7,10
1 x 2	Teste de Kruskal-Wallis	p=0,439		
3 x 4	Teste de Kruskal-Wallis			
1 x 3	Teste de Mann-Whitney	p=0,047		
2 x 4	Teste de Mann-Whitney	p=0,007		

Legenda: Grupo 1 = Controle de um dia (Sol. Fisiológica 0,9%, 1 mL/200g de peso). Grupo 2 = Controle de sete dias (Sol. Fisiológica 0,9%, 1 mL/200g de peso). Grupo 3 = Experimento de um dia (AAS, 40mg/mL, 1 mL/200g de peso). Grupo 4 = Experimento de sete dias (AAS, 40mg/mL, 1 mL/200g de peso).



**Figura 1.** Hepatócitos PCNA+ por Grupo Experimental.

Legenda: Grupo 1 = Controle de um dia (Sol. Fisiológica 0,9%, 1 mL/200g de peso) Grupo 2 = Controle de sete dias (Sol. Fisiológica 0,9%, 1 mL/200g de peso) Grupo 3 = Experimento de um dia (AAS, 40mg/mL, 1 mL/200g de peso) Grupo 4 = Experimento de sete dias (AAS, 40mg/mL, 1 mL/200g de peso).

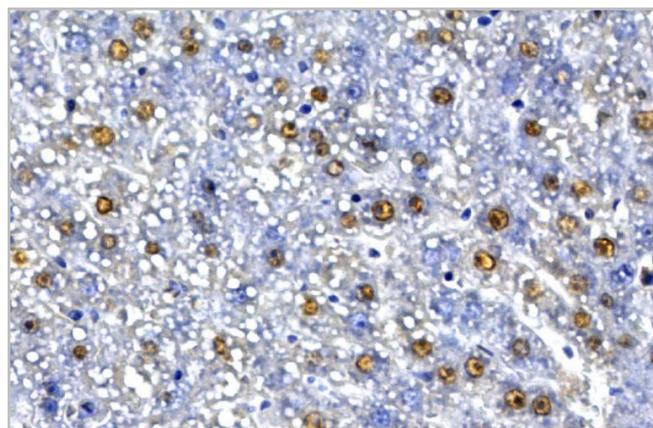
=  $17,57 \pm 6,77$  e 7 dias =  $19,31 \pm 5,30$ ). No grupo experimento (tratado com AAS) verificou-se maior número de células no primeiro dia e menor com sete dias ( $p=0,020$ ) (1 dia =  $26,78 \pm 12,08$  e 7 dias =  $12,40 \pm 5,23$ ).

Na comparação inter-grupos, pode-se verificar que, havia maior número de células PCNA+, no grupo experimento (AAS) na avaliação de um dia (Grupo 1 =  $17,57 \pm 6,77$  e Grupo 3 =  $27,46 \pm 11,55$ ), esta diferença foi significativa ( $p=0,047$ ). Já a comparação entre os dois grupos com sete dias permitiu verificar que havia maior número de células PCNA+ no grupo controle ( $p=0,007$ ), (Grupo 2 =  $19,31 \pm 5,30$  e Grupo 4 =  $12,40 \pm 5,23$ ).

## DISCUSSÃO

O modelo de hepatectomia parcial em ratos é o modelo clássico para estudo da regeneração hepática, tendo sido utilizado por décadas<sup>23</sup>. O modelo descrito por Higgins e Anderson (1931)<sup>21</sup> propõe a remoção cirúrgica de dois terços do fígado, resultando em ativação imediata do processo regenerativo e recuperação completa da massa do órgão após sete a dez dias<sup>24-26</sup>. A popularidade do modelo baseia-se em dois importantes aspectos: a ressecção do tecido hepático não se associa à necrose maciça do tecido remanescente e o tempo de regeneração pode ser precisamente mensurado<sup>27</sup>.

O fígado dos ratos é composto por cinco lobos: lobo direito (38%), lobo esquerdo (30%), lobo caudado (8%) e lobos quadrados (10%)<sup>28</sup>. A estrutura multilobular do fígado dos ratos, com hilos vasculares longos e individualizados, permite ressecção lobar en bloc, deixando um mínimo de tecido isquêmico residual<sup>28</sup>.



**Figura 2.** Campo de Fotomicrografia de Lâmina Histológica com Células Hepáticas. Coradas por PCNA Imunohistoquímica, 400x. Células PCNA+ coradas em marrom.

Na comparação intra-grupos, não houve diferença significativa quando comparados os grupos controle (1 e 2) ( $p=0,439$ ), embora se tenha encontrado maior número de células PCNA+, no sétimo dia (1 dia

Além disso, a secção do parênquima hepático estimula imediatamente o início da regeneração<sup>23-27</sup>. A indução da regeneração ocorre em momento no qual virtualmente todos os hepatócitos encontram-se quiescentes na fase G0<sup>28</sup>; a síntese de DNA começa 12-16 horas após a hepatectomia, e atinge o pico em 24-48 horas<sup>23,29</sup>. Dessa forma, as primeiras 24 horas após o procedimento proporcionam período único para estudo dos hepatócitos, que iniciam o ciclo celular, passando do estado G0 para G1 e de G1 para fase S em relativa sincronia<sup>30</sup>. A taxa de regeneração, então, atinge o máximo entre um e quatro dias (quando analisado em termos de peso do fígado, taxa de regeneração hepática e proliferação de hepatócitos), completando-se após oito dias<sup>31</sup>.

No presente estudo, analisou-se a influência do ácido acetilsalicílico (AAS) na regeneração hepática, após hepatectomia parcial em ratos. Optou-se por modificação da técnica descrita por Higgins e Andersen (1931), adotando-se a ressecção única do lobo hepático esquerdo (aproximadamente 30% do volume do órgão), devido à elevada mortalidade apresentada por amostra de estudo piloto, quando se ressecava 70% da massa hepática. A regeneração hepática foi avaliada um e sete dias após o procedimento, de acordo com indicação da literatura de que a síntese de DNA atinge o pico 24 horas<sup>29</sup> após ressecção e de que o processo de regeneração se completa após sete a dez dias<sup>24-26,31</sup>.

Existem diversos métodos para quantificar a regeneração hepática, incluindo: massa do fígado, contagem de células mitóticas, identificação da síntese de DNA e métodos imuno-histoquímicos. Entre estes, a coloração com anticorpo anti-antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) é um dos mais comuns<sup>32</sup>. O PCNA é uma proteína auxiliar da enzima DNA polimerase delta, essencial para a replicação do DNA em células procarióticas. A expressão é dependente do ciclo celular, sendo detectada inicialmente na fase G1, com pico na fase S. Dessa forma, atua como marcador da entrada das células quiescentes no ciclo celular.

Para determinação da proliferação hepatocitária, calculou-se a média de células marcadas com PCNA (PCNA+) para cada animal e grupo e compararam-se os grupos por meio de teste estatístico apropriado. No presente estudo a média de células PCNA+ entre todos os grupos variou de 7,10 a 44,70,

com média total de  $18,60 \pm 8,74$ . A média de células PCNA+ foi menor no grupo 4 ( $12,40 \pm 5,23$ ) e maior no grupo 3 ( $27,46 \pm 11,55$ ).

A análise do primeiro dia mostrou número de hepatócitos em replicação muito maior no grupo que recebeu AAS do que no controle ( $p=0,047$ ). Já a avaliação com sete dias mostrou maior número de hepatócitos em replicação no grupo controle ( $p=0,007$ ). Estes dados demonstram que, no primeiro momento, quando se instala o processo regenerativo, os animais tratados com AAS tinham taxa de replicação mais ativa. Aos sete dias o grupo não tratado mostrava maior número de hepatócitos em replicação. Esta observação permite deduzir que o processo de replicação se instalou mais precocemente e com maior velocidade no grupo tratado.

Embora Miyaoka et al.<sup>33</sup> tenham apontado a hipertrofia celular como principal mecanismo inicial de aumento da massa hepática após hepatectomia parcial em ratos, Marongiu et al.<sup>34</sup> demonstraram que é a hiperplasia hepatocitária o mecanismo-chave na evolução da regeneração hepática, sendo a hipertrofia apenas parte transitória do processo. Por isso, no presente estudo, o ganho de massa e a hipertrofia hepatocitária não foram avaliados, sendo destacados os efeitos do AAS na regeneração hepática apenas pela hiperplasia hepatocitária, com contagem de células PCNA+.

Wang et al. demonstraram a trombocitopenia e a disfunção plaquetária mediada por medicamentos como fatores determinantes na redução da taxa de regeneração hepática em ratos<sup>35</sup>. As plaquetas se acumulam no tecido hepático remanescente entre 5 e 15 minutos após a hepatectomia parcial em ratos<sup>36,37</sup> e desaparecem após uma hora do procedimento, o que sugere estímulo mitogênico plaquetário já em fases bem iniciais do pós-operatório<sup>36</sup>.

Em humanos, há evidências de que a contagem plaquetária pós-operatória influencia na funcionalidade e na regeneração do tecido hepático transplantado, assim como na morbimortalidade dos pacientes submetidos a hepatectomia<sup>35,38,39</sup>. Inversamente, a trombocitose e a infusão plaquetária em veia porta parecem estimular a regeneração hepática pós-hepatectomia<sup>35,37</sup>.

O exato mecanismo segundo o qual as plaquetas estimulam a regeneração hepática é ainda incerto. Estudos in vivo demonstram que citocinas

inflamatórias e fatores de crescimento liberados pelas plaquetas podem ser cruciais para o início da proliferação hepatocitária<sup>35,36,40</sup>, sendo que o contato direto entre as plaquetas e as células endoteliais dos sinusóides hepáticos parece exercer papel importante no estímulo à liberação desses fatores plaquetários<sup>41</sup>. Estudos in vitro demonstram que a serotonina, armazenada nas plaquetas e liberada em locais de lesão como parte da ação hemostática plaquetária, constitui potente agente mitogênico e remodelador tecidual<sup>42,43</sup>. Assim, a redução do número ou da atividade plaquetária após hepatectomia parcial poderiam influenciar negativamente o processo de regeneração hepática.

Por outro lado, ao avaliar a influência de antiagregantes plaquetários em modelos de cirrose hepática em ratos, Assy et al.<sup>20</sup> demonstraram que o AAS em baixas doses foi capaz de prevenir a progressão de fibrose e de estimular a regeneração hepática em fígados cirróticos. Poujol-Robert et al.<sup>14</sup> observaram a associação entre o uso de AAS e a redução da progressão das taxas de fibrose em pacientes com hepatite C, transplantados.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que o uso do AAS estimulou maior proliferação hepatocitária.

## ABSTRACT

**Objective:** to evaluate the influence of acetylsalicylic acid (ASA) on cell proliferation after partial hepatectomy in rats. **Methods:** 40 male Wistar rats were separated into four groups of ten rats each. Groups 1 and 2 (controls): undergoing 30% partial hepatectomy and, after one day (group 1) and seven days (group 2), to euthanasia; daily administration of 0.9% saline solution (1mL per 200g of body weight). Groups 3 and 4 (experimental): undergoing 30% partial hepatectomy and, after one day (group 3) and seven days (group 4), to euthanasia; daily administration of ASA (40mg/mL, 1mL per 200g of body weight). The absolute number of cells stained with PCNA was counted in photomicrographs, in five fields, and it was calculated the mean of positive cells per animal and per group. **Results:** the final mean of PCNA+ cells per group was: in group 1,  $17.57 \pm 6.77$ ; in group 2,  $19.31 \pm 5.30$ ; in group 3,  $27.46 \pm 11.55$ ; and, in group 4,  $12.40 \pm 5.23$ . There was no significant difference at the two evaluation times in the control group ( $p=0.491$ ), but there was in the experimental group ( $p=0.020$ ), with a lower number of PCNA+ cells on the seventh day. The comparison between the two groups, on the first day, showed more PCNA+ cells in the livers of the animals that received ASA ( $p=0.047$ ), and on the seventh day the number was lower in the experimental group ( $p=0.007$ ). **Conclusion:** ASA induced greater hepatocyte proliferation.

**Keywords:** Liver Regeneration; Aspirin; Hepatectomy.

## REFERÊNCIAS

1. Wang S, Friedman SL. Hepatic fibrosis: a convergent response to liver injury that is reversible. *J Hepatol.* 2020;73(1):210-1. doi: 10.1016/j.jhep.2020.03.011.
2. Anstee QM, Goldin RD, Wright M, Martinelli A, Cox R, Thursz MR. Coagulation status modulates murine hepatic fibrogenesis: Implications for the development of novel therapies. *J Thromb Haemost.* 2008;6(8):1336-43. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03015.x.
3. Schwabe RF, Luedde T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018;15(12):738-52. doi: 10.1038/s41575-018-0065-y.
4. Minuk GY. Hepatic regeneration: If it ain't broke, don't fix it. *Can J Gastroenterol.* 2003;17(7):418-24. doi:10.1155/2003/615403.
5. Chauhan A, Adams DH, Watson SP, Lalor PF. Platelets: No longer bystanders in liver disease. *Hepatology.* 2016;64(5):1774-84. doi:10.1002/hep.28526.
6. Wanless IR, Wong F, Blendis LM, Greig P, Heathcote EJ, Levy G. Hepatic and portal vein thrombosis in cirrhosis: possible role in development of parenchymal extinction and portal hypertension. *Hepatology.* 1995;21(5):1238-47.
7. Li CJ, Yang ZH, Shi XL, Liu DL. Effects of aspirin and enoxaparin in a rat model of liver fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2017;23(35):6412-9. doi:10.3748/wjg.v23.i35.6412.

8. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol.* 1971;231(25):232-5. doi:10.1038/newbio231232a0.
9. Hilário MOE, Terreri MT, Len CA. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. *J Pediatr.* 2006;82(5):S206-S212. doi: 10.1590/S0021-75572006000700011.
10. Iqbal U, Dennis BB, Li AA, et al. Use of anti-platelet agents in the prevention of hepatic fibrosis in patients at risk for chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int.* 2019;13(1):84-90. doi:10.1007/s12072-018-9918-2.
11. Lee TY, Hsu YC, Tseng HC, et al. Association of Daily Aspirin Therapy With Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Chronic Hepatitis B. *JAMA Intern Med.* 2019;179(5):633-40. doi:10.1001/jamainternmed.2018.8342.
12. Hossain MA, Kim DH, Jang JY, et al. Aspirin induces apoptosis in vitro and inhibits tumor growth of human hepatocellular carcinoma cells in a nude mouse xenograft model. *Int J Oncol.* 2012;40(4):1298-304. doi:10.3892/ijo.2011.1304.
13. Trujillo-Murillo K, Rincón-Sánchez AR, Martínez-Rodríguez H, et al. Acetylsalicylic acid inhibits hepatitis C virus RNA and protein expression through cyclooxygenase 2 signaling pathways. *Hepatology.* 2008;47(5):1462-72. doi:10.1002/hep.22215.
14. Poujol-Robert A, Boëlle PY, Conti F, et al. Aspirin may reduce liver fibrosis progression: Evidence from a multicenter retrospective study of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2014;38(5):570-6. doi:10.1016/j.clinre.2014.07.004.
15. Jiang ZG, Feldbrügge L, Tapper EB, et al. Aspirin use is associated with lower indices of liver fibrosis among adults in the United States. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016;43(6):734-43. doi:10.1111/apt.13515.
16. Sitia G, Aiolfi R, Di Lucia P, et al. Antiplatelet therapy prevents hepatocellular carcinoma and improves survival in a mouse model of chronic hepatitis B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(32):E2165-72. doi:10.1073/pnas.1209182109.
17. Sahasrabudhe VV, Gunja MZ, Graubard BI, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use, chronic liver disease, and hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(23):1808-14. doi:10.1093/jnci/djs452.
18. Biondo-Simões MLP, Matias JEF, Martone D, Barbos, RF, Ogawa GH. Influência da glutamina na regeneração hepática. *Revista De Medicina.* 2007;86(4):219-21. <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v86i4p219-221>.
19. Biondo-Simões MLP, Bonato FT, Menacho AM, Drechmer M, Cavalcanti TCS, Felizola SJA. Cicatrização da parede abdominal após hepatectomia parcial. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2011;38(2):127-32. <https://doi.org/10.1590/S0100-69912011000200011>.
20. Assy N, Hussein O, Khalil A, et al. The beneficial effect of aspirin and enoxaparin on fibrosis progression and regenerative activity in a rat model of cirrhosis. *Dig Dis Sci.* 2007;52(5):1187-93. doi:10.1007/s10620-006-9595-1.
21. Higgins G, Anderson G. Experimental pathology of the liver restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol (Chic).* 1931;(12):186-202.
22. Conceia. Diretrizes da prática de Eutanásia do. *Cons Nac Control Exp Anim Resolução Norm.* 2013.
23. Forbes SJ, Newsome PN. Liver regeneration - mechanisms and models to clinical application. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13(8):473-85. doi:10.1038/nrgastro.2016.97.
24. Zafarnia S, Mrugalla A, Rix A, et al. Non-invasive Imaging and Modeling of Liver Regeneration After Partial Hepatectomy. *Front Physiol.* 2019;10:904. doi:10.3389/fphys.2019.00904.
25. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5(10):836-47. doi:10.1038/nrm1489.
26. Nishiyama K, Nakashima H, Ikarashi M, et al. Mouse CD11b+Kupffer Cells Recruited from Bone Marrow Accelerate Liver Regeneration after Partial Hepatectomy. *PLoS One.* 2015;10(9):e0136774. doi:10.1371/journal.pone.0136774.
27. Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic

- dilemmas. *Am J Pathol.* 2010;176(1):2-13. doi:10.2353/ajpath.2010.090675.
28. Palmes D, Spiegel HU. Animal models of liver regeneration. *Biomaterials.* 2004;25(9):1601-11. doi:10.1016/s0142-9612(03)00508-8.
29. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after hepatectomy. *Hepatogastroenterology.* 2001;48(38):556-62.
30. Diehl AM, Rai R. Review: regulation of liver regeneration by pro-inflammatory cytokines. *J Gastroenterol Hepatol.* 1996;11(5):466-70. doi:10.1111/j.1440-1746.1996.tb00292.x.
31. Andersen KJ, Knudsen AR, Kannerup AS, et al. The natural history of liver regeneration in rats: description of an animal model for liver regeneration studies. *Int J Surg.* 2013;11(9):903-8. doi:10.1016/j.ijsu.2013.07.009.
32. Biondo-Simões ML, Matias JE, Montibeller GR, Siqueira LC, Nunes Eda S, Grassi CA. Effect of aging on liver regeneration in rats. *Acta Cir Bras.* 2006;21(4):197-202. doi:10.1590/s0102-86502006000400002.
33. Miyaoka Y, Ebato K, Kato H, Arakawa S, Shimizu S, Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. *Curr Biol.* 2012;22(13):1166-75. doi:10.1016/j.cub.2012.05.016.
34. Marongiu F, Marongiu M, Contini A, et al. Hyperplasia vs hypertrophy in tissue regeneration after extensive liver resection. *World J Gastroenterol.* 2017;23(10):1764-70. doi:10.3748/wjg.v23.i10.1764.
35. Wang HQ, Yang J, Yang JY, Wang WT, Yan LN. Low immediate postoperative platelet count is associated with hepatic insufficiency after hepatectomy. *World J Gastroenterol.* 2014;20(33):11871-7. doi:10.3748/wjg.v20.i33.11871.
36. Alkozai EM, Nijsten MW, de Jong KP, et al. Immediate postoperative low platelet count is associated with delayed liver function recovery after partial liver resection. *Ann Surg.* 2010;251(2):300-6. doi:10.1097/SLA.0b013e3181b76557.
37. Matsuo R, Nakano Y, Ohkohchi N. Platelet administration via the portal vein promotes liver regeneration in rats after 70% hepatectomy. *Ann Surg.* 2011;253(4):759-63. doi:10.1097/SLA.0b013e318211caf8.
38. Margonis GA, Amini N, Buettner S, et al. Impact of early postoperative platelet count on volumetric liver gain and perioperative outcomes after major liver resection. *Br J Surg.* 2016;103(7):899-907. doi:10.1002/bjs.10120.
39. Borowiak M, Garratt AN, Wüstefeld T, Strehle M, Trautwein C, Birchmeier C. Met provides essential signals for liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(29):10608-13. doi:10.1073/pnas.0403412101.
40. Blindenbacher A, Wang X, Langer I, Savino R, Terracciano L, Heim MH. Interleukin 6 is important for survival after partial hepatectomy in mice. *Hepatology.* 2003;38(3):674-82. doi:10.1053/jhep.2003.50378.
41. Kawasaki T, Murata S, Takahashi K, et al. Activation of human liver sinusoidal endothelial cell by human platelets induces hepatocyte proliferation. *J Hepatol.* 2010;53(4):648-54. doi:10.1016/j.jhep.2010.04.021.
42. Fanburg BL, Lee SL. A new role for an old molecule: serotonin as a mitogen. *Am J Physiol.* 1997;272(5 Pt 1):L795-806. doi:10.1152/ajplung.1997.272.5.L795.
43. Seuwen K, Pouyssegur J. Serotonin as a growth factor. *Biochem Pharmacol.* 1990;39(6):985-90. doi:10.1016/0006-2952(90)90276-q.

Recebido em: 20/08/2021

Aceito para publicação em: 06/10/2021

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: não.

#### Endereço para correspondência:

Maria de Lourdes Pessole Biondo Simões

E-mail: malubiondo@gmail.com

