

Regeneração hepática: Revisão de literatura

Liver regeneration: Literature review

EDIMAR LEANDRO TORDERKE TCBC-PR¹ ; JORGE EDUARDO FOUTO MATIAS ACBC-PR¹ .

R E S U M O

A regeneração hepática é um processo de crescimento tecidual altamente organizado e é a reação mais importante do fígado à agressão. Os mecanismos complexos envolvidos neste processo abrangem uma variedade de vias regenerativas que são específicas para os diferentes tipos de agressão. A forma mais estudada de regeneração hepática é aquela que ocorre após a perda de hepatócitos em uma lesão aguda, como no processo regenerativo de roedores após hepatectomia parcial ou administração de produtos químicos lesivos (CCl₄, paracetamol, álcool alílico). Estes modelos experimentais revelaram vias de sinalização extracelular e intracelular que são usadas para retornar o fígado ao tamanho e peso equivalentes aos anteriores à lesão. A compreensão do processo de regeneração do fígado é um desafio que se encontra justificado nas inúmeras interações de diferentes componentes celulares, vários fatores mitogênicos (completos e incompletos), vias mitogênicas complexas e proteínas inflamatórias de fase aguda. Hepatócitos, colangiócitos e células progenitoras do fígado provaram ter comportamento regenerativo. As atividades regenerativas de hepatócitos e colangiócitos são tipicamente caracterizadas pela fidelidade fenotípica (multiplicação), no entanto, quando a regeneração normal é frustrada, os hepatócitos e os colangiócitos funcionam como células-tronco facultativas (desdiferenciam) ou se transdiferenciam para restaurar a estrutura normal do fígado. Esta revisão traça o caminho percorrido nas últimas décadas no estudo da regeneração hepática e destaca novos conceitos na área.

Palavras-chave: Regeneração Hepática. Fígado. Fator de Crescimento de Hepatócito. Hepatócitos.

INTRODUÇÃO

Um fascinante aspecto do fígado é a sua marcante capacidade de regeneração¹. A perda de células funcionantes, seja por injúria traumática, isquêmica, química, viral ou por hepatectomia parcial, induz ao processo regenerativo hepático^{2,3}. Esta capacidade do fígado de regular com precisão o seu crescimento e massa é particularmente notável porque os hepatócitos são células estáveis e raramente se dividem no estado normal⁴. As células encontram-se quiescentes na fase G₀ do ciclo celular, com apenas 0,0012% a 0,01% dos hepatócitos em fase de mitose^{5,6}. Essa baixa capacidade de replicação celular pode ser estimulada por mecanismos de injúria o que ocasiona restauração da massa e função hepática adequada ao tamanho do organismo^{7,8}. O termo regeneração, consagradamente utilizado, tem apenas o significado de recuperação do volume do órgão¹. O que ocorre é a hiperplasia global de todo o parênquima até que se restabeleça a massa hepática primitiva com variações mínimas (5 a 10%), quando então ocorre interrupção abrupta do processo⁹⁻¹¹.

Devido às limitações no uso de fígados humanos, a maioria das informações sobre o processo regenerativo são provenientes de modelos “in vivo” com pequenos roedores (ratos e camundongos) ou “in vitro” utilizando células hepáticas em cultura⁶. O modelo em ratos introduzido por Higgins e Anderson em 1931 é o principal e mais difundido método de estudo do processo regenerativo hepático^{1,12,13}. Neste modelo os lobos médio e lateral esquerdo são removidos através da ligadura do pedículo vascular, resultando na retirada de aproximadamente 70% (2/3) da massa hepática total desses animais¹²⁻¹⁵. O processo regenerativo no fígado do rato inicia-se imediatamente após a injúria e completa-se em 7 a 10 dias^{1,6,8,9,13,15,16}. No fígado humano, a restauração parcial parece ocorrer em duas a três semanas e a restauração completa só foi observada após seis meses^{17,18}.

1 Iniciação da regeneração hepática

A redução abrupta da massa hepática, como por exemplo em uma hepatectomia, resulta em um aumento do fluxo sanguíneo e da pressão portal para os

1 - Universidade Federal do Paraná, Clínica Cirúrgica - Curitiba - PR - Brasil

segmentos hepáticos remanescentes, o que é considerado fator importante para o início da regeneração hepática⁸. Várias alterações ocorrem nos hepatócitos logo após a hepatectomia em ratos, que incluem o aumento da atividade da uroquinase em 1 minuto e migração da β -catenina e do domínio intracelular da via NOTCH (NICD – Notch Intracellular Domain) para o núcleo em 5 e 15 minutos respectivamente^{5,7}. Os principais receptores, C-MET (receptor do fator de crescimento do hepatócito) e EGFR (receptor do fator de crescimento epidérmico), são ativados em aproximadamente 30 minutos^{19,20} e ocorre a expressão de mais de 100 genes que aumentam em 1 hora e sustentam-se até 14 dias após hepatectomia²¹. A membrana plasmática do hepatócito torna-se hiperpolarizada em 30 minutos após insulto inicial, com rápida entrada de sódio e elevação do pH intracelular³. O aumento do ativador de plasminogênio tipo uroquinase (uPA – uroquinase type plasminogen activator) origina uma série de proteólises que converte o plasminogênio em plasmina. Na sequência ocorre ativação das metaloproteinases 9 (MMP9) que resulta na degradação de proteínas específicas da matriz extracelular (ECM – extracellular matrix), incluindo os glicosaminoglicanos, e ativação do fator de crescimento dos hepatócitos (HGF – hepatocyte growth factor)²²⁻²⁴. O HGF está presente na forma inativa na ECM, sendo ativado e liberado em menos de 1 hora de forma maciça para a corrente sanguínea²⁵.

2 Contribuição dos fatores de crescimento e citocinas

O processo de regeneração é dependente da presença ou ausência de muitos agentes sinalizadores que podem agir em conjunto ou isoladamente. Devido às múltiplas interações existentes entre os genes, os fatores de crescimento e as citocinas, é improvável que um único agente sinalizador determine completamente o processo regenerativo ou que, na sua ausência, sejam abolidas completamente as etapas regenerativas^{11,16}.

2.1 Agentes mitogênicos completos

Agentes mitogênicos completos são capazes de induzir síntese de DNA em culturas de hepatócitos e

mitose em uma população de células em repouso (fase G0 do ciclo celular). Quando administrado em animais não operados causam aumento do volume do fígado. O efeito dos agentes mitogênicos completos pode ser potencializado por agentes mitogênicos incompletos ou auxiliares²⁶.

O fator de crescimento do hepatócito (HGF – hepatocyte growth factor) está sempre associado ao seu receptor C-MET. A elevação precoce dos níveis plasmáticos de HGF após hepatectomia, precedendo em muitas horas o início da síntese de DNA, sugere que este fator seja o principal candidato à função de indutor do processo regenerativo^{9,13}. O HGF está presente na forma inativa (pró-HGF) em grande quantidade na ECM, principalmente na área periportal²⁷. Logo após a hepatectomia ocorre a remodelação da ECM, que desencadeia uma cascata de eventos culminando na ativação da uPA. Na sequência, através da uPA, ocorre a maturação do pró-HGF para HGF e ativação do receptor C-MET na membrana plasmática permitindo a sua incorporação para o interior da célula hepática³. O HGF liga-se ao seu receptor C-MET 30 minutos após a hepatectomia²⁰. O HGF é liberado na circulação sanguínea, atingindo uma concentração 10 vezes maior que a basal em 1 hora após a hepatectomia²⁵. A concentração do HGF na circulação decresce nas 3 horas seguintes, entretanto a partir deste momento inicia-se a produção de RNA mensageiro para o HGF nos pulmões, baço e rins. Neste contexto, na sequência, observa-se novo aumento da concentração do HGF na circulação sanguínea, com pico em 24h após a hepatectomia²⁸. A noradrenalina é considerada uma substância estimuladora da produção de HGF nesta etapa^{29,30}. Nos fígados normais, nos estágios precoces da regeneração hepática, o HGF também é produzido pelas células estreladas hepáticas (HSC – hepatic stellate cells) e durante estágios finais, o HGF é produzido pelas células endoteliais sinusoidais do fígado (LSEC – liver sinusoidal endothelial cells) e células progenitoras^{31,32}.

O fator de crescimento epidérmico (EGF – epidermal growth factor) é o mais antigo fator estudado pois foi o primeiro fator de crescimento isolado¹¹. Apresenta a característica de estimular a síntese de DNA na maioria das células epiteliais, inclusive nos hepatócitos. O EGF, considerado um agente mitogênico completo,

é produzido nas glândulas salivares e nas glândulas de Brunner do duodeno e está constantemente presente na circulação portal. A produção do EGF nas glândulas de Brunner é otimizada pela presença da norepinefrina³³. Os níveis séricos de EGF elevam-se em poucas horas após uma hepatectomia parcial, mas diminuem rapidamente, antes mesmo da síntese de DNA pelos hepatócitos³. Quando o EGF é acrescentado em cultura de hepatócitos, a síntese de DNA inicia em 24 horas com pico atingindo o período entre 48 e 72 horas⁹.

O fator de crescimento transformador alfa (TGF α – transforming growth factor alpha) também é um ligante do EGFR e apresenta efeitos regenerativos mais intensos quando comparados com o EGF³⁴. Apresenta capacidade de estimular a proliferação dos hepatócitos “in vitro” e “in vivo”³. Não está presente no fígado normal, mas é rapidamente identificado após uma hepatectomia³⁵. Ocorre um aumento dos níveis RNAm para TGF α 8 horas após a hepatectomia, com níveis atingindo um pico máximo em 24 horas após este procedimento³⁶. A secreção de TGF α pelos hepatócitos em regeneração possivelmente se constitui em uma alça autócrina estimuladora da síntese de DNA^{9,37}.

O fator de crescimento epidérmico ligado a heparina (HB-EGF – heparin binding epidermal growth factor) é produzido por células endoteliais e células de Kupffer³⁸⁻⁴⁰. É um potente agente mitogênico completo em culturas e quando administrado em ratos após hepatectomia ocasiona um maior estímulo regenerativo³⁸. A expressão do gene HB-EGF é intensamente regulada por citocinas, fatores de crescimento e fatores de transcrição³⁹. O HB-EGF produzido pelas LSEC mantém as HSC em estado de quiescência, o que é fator importante para impedir o processo de fibrose e de cirrose hepática⁴¹.

A anfirregulina, produzida pelos hepatócitos, é um fator de crescimento de resposta precoce que pode contribuir para as fases iniciais da regeneração hepática. “In vitro”, se comporta como mitogênico primário para hepatócitos isolados, agindo por meio do receptor do fator de crescimento epidérmico. Tem a expressão aumentada pela presença da IL-1 β (interleucina-1beta) e prostaglandina E2. Também, a sua expressão está sob controle da proteína YAP (yes associated protein) e da quinase Hippo, que tem mostrado importante regulação no término da regeneração hepática^{8,42}.

O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR – epidermal growth factor receptor) é um membro da família ERB dos receptores, sendo expresso em todas as células do fígado. A ativação do EGFR é evidenciada pela fosforilação da tirosina e apresenta pico 60 minutos após a hepatectomia¹¹. Os ligantes do EGFR relevantes para a regeneração hepática são o fator de crescimento epidérmico, o fator de crescimento transformador alfa, o fator de crescimento epidérmico ligado a heparina e a anfirregulina^{5,43}.

2.2 Agentes mitogênicos incompletos

Os agentes mitogênicos incompletos ou auxiliares não têm efeito direto na proliferação dos hepatócitos, mas são capazes de potencializar o efeito dos agentes mitogênicos completos e reduzir o efeito dos agentes inibidores. Não possuem efeitos mitogênicos quando adicionados isoladamente em meios de cultura⁹ e não originam aumento de parênquima quando administrados isoladamente em experimentos com animais. Muitos deles agem sobre a precisa sequência de eventos que culminam com a iniciação da proliferação hepatocitária.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF α – tumour necrosis factor α), produzido pelos macrófagos hepáticos e esplênicos, aumenta rapidamente no plasma após hepatectomia. A presença do TNF α está associada com uma otimização dos sinais de proliferação celular quando as células já se encontram estimuladas. A ativação do seu receptor (TNFR1) desencadeia a ativação do fator nuclear κ B (NF- κ B – nuclear factor kappa B), que é a sua via de sinalização para a regeneração hepática⁴⁴. O receptor C-MET (para o HGF) e o receptor EGFR (para o EGF e TGF α) têm um aumento na sua transdução após estímulo causado pela ligação do TNF α ¹⁶. O TNF α ativa a c-Jun N-terminal quinase (JNK) que também modula transcrição gênica⁴⁵.

A interleucina-6 (IL-6) é produzida predominantemente pelos hepatócitos e macrófagos hepáticos sob o estímulo do TNF α ⁴⁶. A concentração de IL-6 no plasma aumenta após hepatectomia parcial, com pico em 24 horas, contribuindo para a ativação da proteína transdutora de sinal e ativadora da transcrição 3 (STAT3 – signal transducers and activators of transcription 3)⁴⁷.

Os ácidos biliares estão aumentados na circulação sanguínea após hepatectomia e a sua ausência

diminui o processo regenerativo. A sua elevação acontece, predominantemente, 48 horas após o estímulo inicial, sendo assim improvável que os ácidos biliares contribuam para as fases iniciais do processo regenerativo⁴⁸.

A insulina é produzida nas células beta das ilhotas pancreáticas e posteriormente, via circulação portal, chega ao fígado. Mesmo sendo considerado um agente mitogênico incompleto ou auxiliar, a insulina é essencial para os efeitos do HGF e do EGF em cultura de hepatócitos. No entanto, a insulina na cultura de hepatócitos sem a presença do HGF ou EGF não induz a proliferação do hepatócito^{49,50}. Postula-se que a insulina se liga ao receptor C-MET e ao EGFR juntamente com os ligantes específicos, contribuindo para o processo regenerativo⁸.

A noradrenalina não é um agente mitogênico completo em cultura de hepatócitos, mas potencializa sensivelmente os efeitos do EGF e do HGF neste método. É produzida nas sinapses terminais dos neurônios simpáticos, na medula adrenal e nas HSC. Aumenta após hepatectomia em ratos ao mesmo tempo que ocorre o aumento do HGF²⁹. Tem sido relacionada como colaboradora e potencializadora dos efeitos regenerativos seguindo a ativação dos receptores C-MET e EGFR⁴⁹. A noradrenalina suprime a inibição da proliferação dos hepatócitos através do bloqueio da via do fator de crescimento transformador beta-1; estimula a produção de HGF pelos fibroblastos e a produção EGF pelas glândulas de Brunner^{30,33} e está envolvida na ativação do STAT3 e do NF- κ B⁵¹.

2.3 Vias mitogênicas complexas

Recentemente foram identificadas algumas redes de sinais, com sequências de etapas, que participam do processo regenerativo, sendo denominadas de vias mitogênicas complexas.

O sistema sinalizador da WNT/ β -catenina desempenha importante função na regulação de células progenitoras em muitos órgãos e tecidos. Sob diversas condições de lesão hepática, foi observado a expressão de vários genes da família WNT e participação na regulação das células progenitoras hepáticas^{52,53}. A via WNT, que atua em sinergismo com o C-MET e o EGFR, é um complexo sistema composto de muitas etapas

que culmina na produção da β -catenina, proteína que é identificada no núcleo dos hepatócitos em 5 minutos após a hepatectomia^{19,54}. Existe referência de 19 proteínas ligantes para a via WNT que são produzidas na maioria das células hepáticas, sua cooperação ou antagonismo no processo regenerativo ocorre quando se ligam aos receptores atípicos acoplados à proteína G, receptores que são denominados de "Frizzled". A ciclina D1, proteína sinalizadora, chave intracelular, que conduz a proliferação do hepatócito, também é regulada por esta via⁵⁵.

A Hedgehog é outro exemplo de via mitogênica complexa. Tanto o receptor como a proteína sinalizadora são expressos nos hepatócitos. Como observado em pesquisas com roedores, a ativação da via Hedgehog está envolvida na otimização do processo regenerativo hepático⁵⁶. O ligante da via Hedgehog está vinculado a uma glicoproteína da superfície celular, a glipicana 3 (GPC3 – Glypican 3) a qual está anexa a CD81 (proteína da superfície celular)⁵⁷. Após a hepatectomia, a GPC3 é separada da CD81 liberando o ligante da via Hedgehog. O ligante ativa a via Hedgehog culminando, em dois dias, com o aparecimento do fator de transcrição GLI1 (proteína citoplasmática), mensageiro final desta via, no núcleo do hepatócito e ativação de vários genes alvos⁵⁸.

Outra complexa via que colabora para o controle do ciclo celular e que responde aos agentes mitogênicos é a via de sinalização do fator de crescimento transformador beta-1 (TGF β 1 – transforming growth factor beta 1), que é uma potente substância mito-inibidora por desempenhar uma função importante na regulação da proliferação de hepatócitos durante a regeneração hepática^{59,60}. Os hepatócitos apresentam concentrações intracelulares significativamente aumentadas de TGF β 1 12 horas após uma hepatectomia parcial de dois terços em ratos. Este aumento na concentração é inicialmente confinado aos hepatócitos que residem na região periportal do ácino hepático, e posteriormente evolui de forma ondulatória nas zonas de Rappaport, atingindo em 36 horas a região centrolobular. A elevação do TGF β 1 intracelular é, no entanto, transitória e, em 48 horas após o estímulo inicial, a maioria dos hepatócitos já não apresenta concentrações significativas deste fator⁶¹. Durante o processo regenerativo, os hepatócitos não são inibidos efetivamente pelo TGF β 1 porque o receptor

para este fator está inibido²⁹. Em fígados normais de ratos, a inibição do receptor do TGFβ1 é suficiente para induzir a síntese do DNA nos hepatócitos, sugerindo que o TGFβ1 e os constantes efeitos do EGF e HGF, aos quais os hepatócitos estão continuamente expostos, têm papéis antagonistas, criando um efeito que mantém o hepatócito quiescentes, na fase G0 do ciclo celular⁶⁰.

A via HIPPO consiste em uma cascata de quinases que regulam a proteína YAP. A proteína YAP interage com os sinalizadores da via do TGFβ1 facilitando as mudanças da expressão dos genes que estão associados ao processo de proliferação celular em geral. Em roedores, foi verificado que durante o processo regenerativo, após uma série de etapas, ocorre inibição da via HIPPO e aumento da expressão da proteína YAP e de seu conteúdo no núcleo dos hepatócitos⁶². A via HIPPO pode ser considerada uma vasta rede receptora de múltiplos, frequentemente contraditórios, sinais que contribuem para a regeneração e aumento de tamanho do fígado⁸.

3 Nível celular da regeneração hepática

A regeneração hepática após hepatectomia é alcançada através da proliferação de todos os tipos celulares existentes no fígado remanescente. O hepatócito é a primeira célula a responder o estímulo regenerativo. Os colangiócitos iniciam o processo na sequência e posteriormente as células endoteliais e estreladas¹¹. A transição da fase G0 para a G1 ocorre simultaneamente em todas as células hepáticas, sendo observado um atraso na mitose nas células não-parenquimatosas devido a existência de uma fase G1 mais prolongada. Em roedores, a replicação das células não-parenquimatosas ocorre 24 horas após a replicação dos hepatócitos^{9,10}.

O processo regenerativo hepático é dividido em 3 etapas: 1) fase de iniciação: os hepatócitos quiescentes convertem-se de G0 para G1 do ciclo celular quando estimulados pelas citocinas inflamatórias (IL-6, TNFα); 2) fase de proliferação: com ajuda dos agentes mitogênicos, os hepatócitos progridem para as fases S, G2 e M (mitose) e 3) fase da inibição: encerram o processo de proliferação sob controle de fatores negativos como o TGFβ e activina^{4,45,63}.

A regeneração hepática pode ocorrer através da multiplicação celular, onde cada célula do fígado prolifera para recuperar o seu próprio tipo celular (fenotipicamente idênticas) ou através da produção de novas células, fenotipicamente diferentes. Este último processo pode ocorrer pela 1) desdiferenciação celular, que acontece quando uma célula já diferenciada realiza uma regressão celular para célula progenitora facultativa (célula oval) e posterior diferenciação em outros tipos celulares específicos, como por exemplo o hepatócito regredindo para célula progenitora e originado posteriormente um colangiócito; ou pela 2) transdiferenciação celular, que é observada quando ocorre a transformação de uma célula diferenciada para outro tipo celular específico, sem a regressão para uma célula progenitora, como por exemplo, quando um colangiócito origina um hepatócito diretamente^{4,11}.

Os hepatócitos dos roedores atingem a fase G1 em aproximadamente 4 horas, progredindo para a fase G1-S com a síntese de DNA 10 a 12 horas após o estímulo inicial. O primeiro pico de produção de DNA ocorre em 24 horas com menores picos em 36 e 48 horas após a ressecção hepática. A fase G2-M, segue de 6 a 8 horas após a síntese de DNA (22 a 24 horas após a ressecção hepática) atingindo um pico em 32 a 34 horas após a cirurgia^{9,64}. Quando a razão massa/volume atinge o tamanho original do órgão, os hepatócitos retornam ao seu estado de quiescência na fase G0¹.

Em ratos adultos com menos de 20 meses, 95% dos hepatócitos sintetizam DNA durante os primeiros três dias após a hepatectomia⁸. A proliferação dos hepatócitos acontece como uma onda que varre o ácino hepático da região periportal em direção da região centrolobular. Os hepatócitos localizados nas zonas 1 e 2 de Rappaport replicam o DNA mais precocemente do que aqueles próximos à veia centrolobular (zona 3 do ácino hepático)⁹.

Os colangiócitos desempenham papel importante na regeneração do parênquima. Além das funções metabólicas, exibem plasticidade substancial e, em alguns contextos, podem levar ao repovoamento hepático. Proliferando quase ao mesmo tempo que os hepatócitos, os colangiócitos respondem aos mesmos sinais aos quais os hepatócitos estão expostos (HGF, ligantes do EGFR, IL-6, serotonina, via YAP e Hedgehog) e expressam o C-MET e o EGFR⁸.

As células estreladas hepáticas (HSC – hepatic stellate cells) apresentam papel na regeneração hepática contribuindo para a síntese do colágeno e outros componentes da matriz extracelular⁶⁵ e produzem proteínas sinalizadoras que são essenciais para a regeneração, incluindo o HGF e o TGF β 1¹³. Apresentam um importante papel no “nicho progenitor celular” servindo como suporte para as células progenitoras hepáticas (LPC – liver progenitor cells)⁶⁶. Além disso, as HSC não apenas promovem a regeneração hepática por produzirem fatores de crescimento para as LPC, mas também exibem propriedades de célula progenitora. As HSC podem facultativamente originar células progenitoras e posteriormente formar hepatócitos e colangiócitos⁶⁷⁻⁶⁹.

As células de Kupffer, endoteliais e estreladas são essenciais para a proliferação normal hepatocitária devido ao fato de produzirem citocinas e fatores de crescimento necessários ao processo⁴⁵. As citocinas ativam os fatores de transcrição como o fator nuclear κ B (NF- κ B), a proteína transdutora de sinal e ativadora da transcrição 3 (STAT3) e a ciclina D1⁶⁴.

As LPC (liver progenitor cells) podem ser nominadas de diferentes formas: células ovais, células progenitoras hepáticas, hepatoblastos fetais, células tronco hepáticas e células ductais atípicas⁷⁰. Elas foram primeiramente descritas em estudos em ratos como células ovais devido ao núcleo estar ovalado e em proporção aumentada em relação ao citoplasma. Anatomicamente, estão localizadas nos ramos terminais da árvore biliar, nos canais de Hering (ductos biliares intra-hepáticos), e estão posicionadas entre as células biliares e os hepatócitos. Embora as LPC não sejam observadas nos fígados normais em adultos, estas células aparecem em resposta a uma agressão aguda severa^{71,72}. Estudos com roedores ilustram que hepatócitos e colangiócitos podem se desdiferenciar em células progenitoras⁷³. O processo de diferenciação das LPC em hepatócitos e/ou colangiócitos tem envolvimento de um conjunto de interações que controlam os diversos caminhos para a diferenciação celular específica. Citam-se como participantes deste processo os macrófagos, os miofibroblastos e as vias de ativação NOTCH e WNT⁷⁴⁻⁷⁶.

A principal célula do fígado que realiza o processo de desdiferenciação são os colangiócitos

(BEC – biliary epithelial cells)⁷⁷⁻⁷⁹. Neste processo de regeneração celular, os colangiócitos primeiro realizam uma desdiferenciação celular para LPC, na sequência ocorre uma proliferação das LPC e posteriormente uma diferenciação, originando novos hepatócitos e colangiócitos⁷².

A transdiferenciação do hepatócito para colangiócito acontece quando existe um impedimento da regeneração do colangiócito. Este processo regenerativo, onde o hepatócito é responsável pelo papel de célula tronco facultativa, é observado predominantemente na região periportal e está associado com a presença de HGF, do EGF e da expressão do TGF β . Os hepatócitos, neste caso considerados como células híbridas, convertem-se para colangiócitos ocasionando a formação de uma placa ductal embrionária, sem a transformação para uma célula progenitora inicial⁸⁰.

A formação de novos sinusóides hepáticos durante o processo regenerativo é complexa, sendo que este processo irá perdurar por vários dias, com pico na síntese de DNA ocorrendo entre 4 e 7 dias após a hepatectomia em ratos⁸. A proliferação dos hepatócitos forma pequenos aglomerados (clusters) que logo iniciam a produção de vários fatores angiogênicos (VEGF e angiopoietina 1 e 2) o que estimula a migração das células endoteliais do fígado para a formação de capilares que na sequência adquirem fenestrações tornando-se as células sinusoidais hepáticas⁸¹. O fator de crescimento vascular do endotélio (VEGF – vascular endothelial growth factor), que é produzido pelos hepatócitos, estimula a proliferação das células endoteliais pela ativação do receptor VEGFR2 e também estimula o receptor VEGFR1 que induz a produção de HGF pelas células endoteliais⁸². Portanto, existem muitos efeitos parácrinos que se originam das células endoteliais influenciando os hepatócitos e demais células hepáticas⁸³. Todo o processo resulta na presença das células endoteliais precocemente nos locais da proliferação dos hepatócitos, ocasionando a formação do suprimento vascular, posteriormente adquirindo a estrutura sinusoidal e restaurando a arquitetura hepática histológica original⁸¹.

A resposta celular aos vários fatores regenerativos exige a presença de receptores específicos na membrana plasmática. O complexo formado é internalizado na célula e ocorre a ativação de

proteínas tirosinas quinases e fosforilação de proteínas intracelulares. Em sequência, há a ativação de fatores de transcrição, como a STAT3 e o NF- κ B, os quais desencadeiam uma série de eventos secundários e ativação dos genes envolvidos no processo proliferativo (c-fos, c-myc e c-jun). Esta sequência de eventos culmina com a replicação do DNA^{3,9,84}.

Proto-oncogenes são um grupo de genes normais intimamente e fisiologicamente associados à proliferação celular. A expressão dos proto-oncogenes c-fos, c-myc, p53, c-jun e c-ras está relacionado ao ciclo celular, não apenas em fígados em regeneração, mas também em uma série de outras células^{3,9}. A expressão dos proto-oncogenes após a hepatectomia parcial é específica, sequencial e altamente regulada. Mesmo com a incerteza sobre a função dos proto-oncogenes, pode-se utilizar dos níveis destas proteínas para reconhecer as etapas do período pré-replicativo da regeneração hepática (iniciação e progressão). Durante a iniciação há aumento da expressão do c-fos e c-myc entre 30 minutos e 1 hora respectivamente. Entre 8 e 16 horas, já na progressão, ocorre aumento dos níveis do RNAm para p53 e c-ras^{3,9}.

O fator nuclear κ B (NF- κ B – nuclear factor kappa B) é um complexo proteico que desempenha funções como fator de transcrição. Este complexo ativado migra para o núcleo do hepatócito e age em sítios alvos promovendo uma sequência específica de genes. A ativação do NF- κ B acontece 30 minutos após hepatectomia em ratos e tem papel importante na expressão gênica, na regulação do ciclo celular e na proteção dos hepatócitos contra a apoptose celular^{44,85,86}.

A proteína transdutora de sinal e ativadora da transcrição 3 (STAT3 – signal transducers and activators of transcription) é um fator de transcrição ativado pela ligação de citocinas (IL-6 e IL-11), noradrenalina e fatores de crescimento em diferentes tipos celulares. A STAT3 migra para o núcleo e induz a transcrição de vários genes envolvidos na regeneração como o c-jun e o c-fos¹⁶. A ativação da STAT3 ocorre entre 1 e 8 horas após a hepatectomia em roedores^{87,88}.

A ativação da ciclina D1 e sua migração para o núcleo é considerado como um evento sem retorno para o hepatócito entrar na fase S do ciclo celular. Também há expressão da ciclina D2 e D3, em menor intensidade⁸⁹.

4 Término da regeneração hepática

A conclusão da regeneração hepática é possivelmente desencadeada pela recuperação da matriz extracelular. Os hepatócitos gradualmente assumem fenótipo quiescente quando a matriz extracelular é restaurada^{65,90}.

Ao final da regeneração ocorre síntese de novos componentes da matriz extracelular incluindo os glicosaminoglicanos e diferentes tipos de colágenos¹³. Uma série de eventos que ocorrem, como a ligação do HGF aos glicosaminoglicanos e a ligação do TGF β à decorina, fazem o hepatócito retornar à fase G0 do ciclo celular. A nova matriz extracelular, sintetizada pelas células estreladas que foram estimuladas pelo TGF β , restaura os sítios de ligação tanto do HGF como do próprio TGF β ^{13,18}.

A chave regulatória para a restauração da matriz extracelular é a comunicação entre os hepatócitos e as células estreladas. Esta comunicação é regulada por uma quinase ligada a integrina (ILK – integrin-linked kinase), proteína que é observada em ambas as células. A ILK é um supressor do crescimento e um regulador da diferenciação do hepatócito^{91,92}.

Ao término do processo de regeneração, o fígado retorna ao seu tamanho e volume originais. A matriz extracelular é considerada como um dos agentes reguladores do peso normal do fígado e está envolvida na restauração a valores pré-hepatectomia⁸. Existem evidências de que o número de hepatócitos produzidos na regeneração pode exceder a quantidade original, e para controlar esse desarranjo, uma leve onda de apoptose pode ocorrer⁹³. Estudos em ratos demonstram que a proliferação dos hepatócitos termina em 6 a 8 dias após a hepatectomia e que a relação ideal do peso do fígado para o corpo chega a 85% em 2 semanas⁹⁴.

O fator de crescimento transformador beta (TGF β – transforming growth factor beta), produzido pelos hepatócitos e pelas células não parenquimatosas, é uma citocina multifuncional que possui tanto efeitos inibitórios quanto estimulatórios dependendo do tipo celular e das condições envolvidas⁹⁵. No rato, sua administração antes e após uma hepatectomia parcial inibe o pico de síntese de DNA⁹. A sua liberação desde o início da regeneração é regulada para ocasionar o efeito

específico adequado para o momento da proliferação celular. No final da regeneração, a ligação com a decorina, uma proteína ligada a GPI (glicosilfosfatidilinositol) da membrana plasmática dos hepatócitos, tem efeito direto inibitório no C-MET e EGFR^{96,97}. Nesse contexto, o TGF β não é o agente que interrompe a regeneração, mas pode ser considerado o “maestro” que orquestra múltiplos eventos em uma complexa alça de feedback, ocasionando a ativação da apoptose celular e o bloqueio da transcrição gênica^{13,18}.

A activina é um membro da superfamília do TGF β . Apresenta receptor com estrutura semelhante ao receptor do TGF β e via de sinalização semelhante. É produzida pelos hepatócitos e apresenta efeito inibidor da proliferação dos hepatócitos próximos, demonstrando um efeito autócrino. Entretanto, estimula a proliferação das células progenitoras dos hepatócitos em modelos experimentais com roedores¹¹.

5 Regeneração hepática após lesão química

Embora a maioria das informações sobre a regeneração do fígado sejam provenientes dos estudos após ressecção de parênquima hepático em modelos experimentais, a maioria das situações que evocam respostas regenerativas na doença hepática humana está associada a lesões devido a produtos químicos ou vírus. Além das vias de sinalização regenerativa, várias vias de sinalização inflamatória também operam no contexto da remoção do tecido hepático lesionado antes do início da regeneração. Nas agressões químicas, as vias de sinalização da regeneração hepática são semelhantes às que operam após a remoção do parênquima em uma hepatectomia, mas é altamente provável que os macrófagos recrutados também desempenhem papéis importantes⁸.

A maioria dos estudos relacionados à lesão hepática induzida quimicamente se concentrou nos efeitos sobre os hepatócitos utilizando paracetamol e o tetracloreto de carbono (CCl₄)^{98,99}. As células das regiões centrolobulares são as mais atingidas nas lesões químicas provavelmente devido a apresentarem maior expressão da família de enzimas conhecidas como citocromo P450 que em situações de alta toxicidade resultam na geração de radicais livres tóxicos para os hepatócitos

ocasionando morte por necrose^{98,99}. Logo após a necrose dos hepatócitos, ocorre infiltração das áreas afetadas por leucócitos e macrófagos polimorfonucleares, resultando na remoção das células mortas. A regeneração do fígado se manifesta pela síntese de hepatócitos das áreas não afetadas do lóbulo e migração dos hepatócitos em proliferação para as áreas lesadas restaurando a integridade estrutural do lóbulo e reparando a injúria¹⁰⁰.

Os modelos experimentais para necrose periportal são limitados ao uso de álcool alílico^{101,102}. O reparo dessa lesão leva mais tempo do que o do tipo centrolobular provavelmente devido a eliminação da ECM na região periportal que apresenta altas concentrações de HGF e EGF eliminando dessa forma os reservatórios vitais destes fatores de crescimento que são essenciais para o início da proliferação hepática¹⁰³.

6 Regeneração hepática após oclusão vascular

Após a oclusão vascular portal ocorrem alterações hemodinâmicas, celulares e moleculares, que resultam na atrofia do segmento ocluído e hipertrofia do segmento vascularizado. A hipertrofia deve-se à multiplicação celular de forma compensatória para a readequação da função hepática. A atrofia do tecido hepático e perda de volume é causada principalmente por apoptose e necrose de hepatócitos¹⁰⁴.

Os fatores-chave que iniciam a regeneração hepática após a oclusão da veia porta ainda não são plenamente conhecidos. Estudos recentes levaram ao desenvolvimento de diferentes hipóteses para tentar explicar os estímulos iniciais do processo regenerativo. O conceito predominante é a “teoria do fluxo sanguíneo”¹⁰⁵. Esta teoria postula que o aumento significativo do fluxo portal por unidade de massa hepática nos lobos não ocluídos pode desencadear o início do processo regenerativo^{84,106}. O aumento do fluxo portal ocasiona estresse físico (estresse de cisalhamento) na superfície sinusoidal do fígado que estimula as células endoteliais sinusoidais, os hepatócitos e as células de Kupffer a iniciar o processo de regeneração¹⁰⁷. Também ocorre maior acessibilidade de fatores hepatotróficos (fatores de crescimento, hormônios e nutrientes) provenientes do intestino, pâncreas e baço que se apresentam em uma maior quantidade devido a concentração do

fluxo portal⁸, que aumentam em quantidade nos lobos hepáticos não ocluídos, estimulando a atividade regenerativa¹⁰⁸.

As alterações no fluxo portal resultam em alterações inversas no fluxo da artéria hepática¹⁰⁹. A hiperperfusão venosa portal é acompanhada de hipoperfusão arterial hepática, o que resulta em oxigenação tecidual inadequada no segmento não ligado. Supõe-se que a hipóxia relativa pode ativar mecanismos adaptativos que iniciam e sustentam o processo regenerativo¹¹⁰.

Após a ligadura portal seletiva em fígado de ratos, observa-se uma resposta regenerativa nos lobos não ligados semelhante à resposta nos lobos mantidos após ablação do parênquima hepático¹¹¹, no entanto, estes lobos apresentam um menor aumento da taxa de síntese de DNA e um peso menor final quando comparados aos lobos remanescentes após hepatectomia^{112,113}.

Estudos em ratos após a ligadura portal seletiva demonstraram que o NF-κB, a IL-6 e a STAT3 estão presentes nos lobos ligados e não ligados com pico em 30 minutos, 1 hora e 2 horas. Também ocorre, em ambos os lobos, pico em 30 minutos de expressão do mRNA

dos genes c-fos, c-myc e c-jun^{114,115}. A rápida sinalização destas mudanças sugere que o aumento do fluxo portal por unidade de massa pode instantaneamente ser um estímulo suficiente para desencadear esta cascata de sinais estimulando a atividade regenerativa⁸. O lobo ligado tem uma menor expressão de p53, c-Ha-ras, ciclina E, ciclina D1, ciclina A e do complexo Cdk2 quando comparado com os lobos não ligados, e isto pode ser um ponto crítico para a fase G1, podendo ser o limite entre a atrofia ou a hipertrofia do segmento hepático correspondente^{115,116}.

A busca pela compreensão da regeneração hepática rendeu grandes progressos nas últimas décadas. O processo de regeneração do fígado é estudado mais do que em qualquer outro órgão e compreender os mecanismos subjacentes, não apenas às consequências positivas, mas também potencialmente negativas, pode criar oportunidades terapêuticas. No fígado, as várias estratégias regenerativas adotadas dependem de qual componente celular é mais acometido, mas também, de qual patologia é o gatilho subjacente inicial para a lesão. O desejo de entender a regeneração do fígado para poder fazer a diferença para nossos pacientes nunca foi tão intenso.

ABSTRACT

Liver regeneration is a highly organized tissue growth process and is the liver's most important reaction to aggression. The complex mechanisms involved in this process encompass a variety of regenerative pathways that are specific to the different types of aggression. The most studied form of liver regeneration is that which occurs after the loss of hepatocytes in an acute injury, such as in the regenerative process of rodents after partial hepatectomy or administration of harmful chemicals (CCl₄, paracetamol, allyl alcohol). These experimental models revealed extracellular and intracellular signaling pathways that are used to return the liver to the size and weight equivalent to those prior to the injury. Understanding the liver regeneration process is a challenge that is justified by the numerous interactions of different cellular components, various mitogenic factors (complete and incomplete), complex mitogenic pathways, and acute phase inflammatory proteins. Hepatocytes, cholangiocytes, and liver progenitor cells have been shown to have regenerative behavior. The regenerative activities of hepatocytes and cholangiocytes are typically characterized by phenotypic fidelity (multiplication), however, when normal regeneration is thwarted, hepatocytes and cholangiocytes function as facultative stem cells (dedifferentiate) or transdifferentiate to restore normal liver structure. This review traces the path taken in recent decades in the study of liver regeneration and highlights new concepts in the area.

Keywords: Liver Regeneration. Liver. Hepatocytes. Hepatocyte Growth Factor.

REFERÊNCIAS

1. Court FG, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg*. 2002;89(9):1089–95. DOI: 10.1046/j.1365-2168.2002.02166.x.
2. Assy N, Minuk GY. Liver regeneration: Methods for monitoring and their applications. *J Hepatol*. 1997;26(4):945–52. DOI: 10.1016/S0168-8278(97)80266-8.
3. Jesus RP de, Waitzberg DL, Campos FG. Regeneração hepática: papel dos fatores de crescimento e nutrientes. *Rev Assoc Med Bras*. 2000;46(3):242–54. DOI: 10.1590/s0104-42302000000300010.

4. Tao Y, Wang M, Chen E, Tang H. Liver Regeneration: Analysis of the Main Relevant Signaling Molecules. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:4256352:1-9. DOI: 10.1155/2017/4256352.
5. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver Regeneration. *Science.* 1997;276:35–55.
6. Koniaris LG, McKillop IH, Schwartz SI, Zimmers TA. Liver regeneration. *J Am Coll Surg.* 2003;197(4):634–59. DOI: 10.1016/S1072-7515(03)00374-0.
7. 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.
8. Michalopoulos GK, Bhushan B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18(1):40–55. DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4
9. Ramalho FS, Ramalho LN, Zucoloto S, Castro e Silva Jr O. Regeneração hepática algumas definições num universo de incertezas. *Acta Cir Bras.* 1993;8(4):177–89.
10. Steer CJ. Liver regeneration. *FASEB J.* 1995;9:1396–400. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.016.
11. Michalopoulos GK. Principles of liver regeneration and growth homeostasis. *Compr Physiol.* 2013;3(1):485–513. DOI: 10.1002/cphy.c120014.
12. Higgins GM, Anderson RM. Experimental Pathology of the Liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol Lab Med.* 1931;12:186–202.
13. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol.* 2007;213(2):286–300. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcp.21172>.
14. Martins PNA, Theruvath TP, Neuhaus P. Rodent models of partial hepatectomies. *Liver Int.* 2008;28(1):3–11. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01628.x.
15. Mao SA, Glorioso JM, Nyberg SL. Liver regeneration. *Transl Res.* 2014;163(4):352–62. DOI: 10.1016/j.trsl.2014.01.005.
16. Fausto N. Liver regeneration: From laboratory to clinic. *Liver Transplant.* 2001;7(10):835–44. DOI: 10.1053/jlts.2001.27865.
17. Nagasue N, Yukawa H, Ogawa Y, Kohno H, Nakamura T. Human Liver Regeneration after Major Hepatic Resection. *Ann Surg.* 1987;206(1):30–8.
18. Khan AZ, Mudan SS. Liver regeneration: Mechanisms, mysteries and more. *ANZ J Surg.* 2007;77(1–2):9–14. DOI: 10.1111/j.1445-2197.2006.03981.x.
19. Monga SPS, Padiaditakis P, Mule K, Stolz DB, Michalopoulos GK. Changes in wnt/ β -catenin pathway during regulated growth in rat liver regeneration. *Hepatology.* 2001;33(5):1098–109. DOI: 10.1053/jhep.2001.23786.
20. Köhler C, Bell AW, Bowen WC, Monga SP, Fleig W, Michalopoulos GK. Expression of Notch-1 and its Ligand Jagged-1 in Rat Liver during Liver Regeneration. *Hepatology.* 2004;39(4):1056–65. DOI: 10.1002/hep.20156.
21. Apte U, Gkretsi V, Bowen WC, Mars WM, Luo JH, Donthamsetty S, et al. Enhanced liver regeneration following changes induced by hepatocyte-specific genetic ablation of integrin-linked kinase. *Hepatology.* 2009;50(3):844–51. DOI: 10.1002/hep.23059.
22. Mars WM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Activation of hepatocyte growth factor by the plasminogen activators uPA and tPA. *Am J Pathol.* 1993;143(3):949–58.
23. Mars WM, Kim TH, Stolz DB, Liu ML, Michalopoulos GK. Presence of urokinase in serum-free primary rat hepatocyte cultures and its role in activating hepatocyte growth factor. *Cancer Res.* 1996;56(12):2837–43.
24. Kim TH, Mars WM, Stolz DB, Petersen BE, Michalopoulos GK. Extracellular matrix remodeling at the early stages of liver regeneration in the rat. *Hepatology.* 1997;26(4):896–904. DOI: 10.1002/hep.510260415.
25. Lindroos PM, Zarnegar R, Michalopoulos G K. Hepatocyte growth factor (hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology.* 1991;13(4):743–50. DOI: 10.1016/0270-9139(91)92574-r.
26. Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control. *FASEB J.* 1990;4(2):176–87. DOI: 10.1096/fasebj.4.2.2404819.

27. Liu ML, Mars WM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Distribution of Hepatocyte Growth. *Am J Pathol.* 1994;144(1):129–40.
28. Zarnegar R, DeFrances MC, Kost DP, Lindroos P, Michalopoulos GK. Expression of Hepatocyte Growth Factor mRNA in regenerating rat liver after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;177(1):559–65. DOI: 10.1016/0006-291X(91)92020-K.
29. Cruise JL, Knechtle SJ, Bollinger RR, Kuhn C, Michalopoulos GK. Alpha 1 - Adrenergic Effects and Liver Regeneration. *Hepatology.* 1987;7(6):1189–94.
30. Broten J, Michalopoulos G, Petersen B, Cruise J. Adrenergic stimulation of hepatocyte growth factor expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;262(1):76–9. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1183.
31. Passino MA, Adams RA, Sikorski SL, Akassoglou K. Regulation of hepatic stellate cell differentiation by the neurotrophin receptor p75NTR. *Science.* 2007;315(5820):1853–6. DOI: 10.1126/science.1137603.
32. Deleve LD, Wang X, Wang L. VEGF-sdf1 recruitment of CXCR7+ bone marrow progenitors of liver sinusoidal endothelial cells promotes rat liver regeneration. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2016;310(9):G739–46. DOI: 10.1152/ajpgi.00056.2016.
33. Olsen PS, Poulsen SS, Kirkegaard P. Adrenergic effects on secretion of epidermal growth factor from Brunner's glands. *Gut.* 1985;26(9):920–7. DOI: 10.1136/gut.26.9.920.
34. Reddy CC, Wells A, Lauffenburger DA. Receptor-mediated effects on ligand availability influence relative mitogenic potencies of epidermal growth factor and transforming growth factor α . *J Cell Physiol.* 1996;166(3):512–22. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(199603)166:3<512::AID-JCP6>3.0.CO;2-S.
35. Webber EM, Fitzgerald MJ, Brown PI, Bartlett MH, Fausto N. Transforming growth factor- α expression during liver regeneration after partial hepatectomy and toxic injury, and potential interactions between transforming growth factor- α and hepatocyte growth factor. *Hepatology.* 1993;18(6):1422–31. DOI: 10.1002/hep.1840180622.
36. Russell WE, Coffey JC, Dempsey PJ, Peck AJ. Transforming Growth Factor α Concentrations Increase in Regenerating Rat Liver: Evidence for a Delayed Accumulation of Mature TGF α . *Endocrinology.* 1993;133(4):1731–8.
37. Mead JE, Fausto N. Transforming growth factor α may be a physiological regulator of liver regeneration by means of an autocrine mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(5):1558–62. DOI: 10.1073/pnas.86.5.1558.
38. Ito N, Kawata S, Tamura S, Kiso S, Humihiro T, Damm D, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor is a potent mitogen for rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;198(1):25–31.
39. Raab G, Klagsbrun M. Heparin-binding EGF-like growth factor. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer.* 1997;1333(3). DOI: 10.1016/S0304-419X(97)00024-3.
40. Khai NC, Takahashi T, Ushikoshi H, Nagano S, Yuge K, Esaki M, et al. In vivo hepatic HB-EGF gene transduction inhibits Fas-induced liver injury and induces liver regeneration in mice: A comparative study to HGF. *J Hepatol.* 2006;44(6):1046–54. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.10.027.
41. Maretta-Mira AC, Wang X, Wang L, DeLeve LD. Incomplete Differentiation of Engrafted Bone Marrow Endothelial Progenitor Cells Initiates Hepatic Fibrosis in the Rat. *Hepatology.* 2019;69(3):1259–72. DOI: 10.1002/hep.30227.
42. Berasain C, García-Trevijano ER, Castillo J, Erroba E, Lee DC, Prieto J, et al. Amphiregulin: An early trigger of liver regeneration in mice. *Gastroenterology.* 2005;128(2):424–32. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.11.006.
43. Fausto N. Involvement of the innate immune system in liver regeneration and injury. *J Hepatol.* 2006;45(3):347–9. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.06.009.
44. Kirillova I, Chaisson M, Fausto N. Tumor necrosis factor induces DNA replication in hepatic cells through nuclear factor κ B activation. *Cell Growth Differ.* 1999;10(12):819–28.
45. Hata S, Namae M, Nishina H. Liver development and regeneration: From laboratory study to clinical therapy. *Dev Growth Differ.* 2007;49(2):163–70.

- DOI: 10.1111/j.1440-169X.2007.00910.x.
46. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V, et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science*. 1996;274(5291):1379–83. DOI: 10.1126/science.274.5291.1379.
 47. Norris CA, He M, Kang LI, Ding MQ, Radder JE, Haynes MM, et al. Synthesis of IL-6 by hepatocytes is a normal response to common hepatic stimuli. *PLoS One*. 2014;9(4):1–14. DOI: 10.1371/journal.pone.0096053.
 48. Huang W, Ma K, Zhang J, Qatanani M, Cuvillier J, Liu J, et al. Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science*. 2006;312(5771):233–6. DOI: 10.1126/science.1121435.
 49. Cruise JL, Houck KA, Michalopoulos GK. Induction of DNA synthesis in cultured rat hepatocytes through stimulation of α 1-adrenoreceptor by norepinephrine. *Science*. 1985;227(4688):749–51. DOI: 10.1126/science.2982212.
 50. Geoffrey D, Locker J, Bowen WC, Petersen BE, Katyal S, Strom SC, et al. Population Expansion, Clonal Growth, and Specific Differentiation Patterns in Primary Cultures of Hepatocytes Induced by HGF/SF, EGF and TGF α in a Chemically Defined (HGM) Medium. *Cell*. 1996;132(6):1133–49.
 51. Han C, Bowen WC, Michalopoulos GK, Wu T. Alpha-1 adrenergic receptor transactivates signal transducer and activator of transcription-3 (Stat3) through activation of Src and epidermal growth factor receptor (EGFR) in hepatocytes. *J Cell Physiol*. 2008;216(2):486–97. DOI: 10.1002/jcp.21420.
 52. Apte U, Thompson MD, Cui S, Liu B, Cieply B, Monga SP. Wnt/ β -catenin signaling mediates oval cell response in rodents. *Hepatology*. 2008;47(1):288–95. DOI: 10.1002/hep.21973.
 53. Itoh T, Kamiya Y, Okabe M, Tanaka M, Miyajima A. Inducible expression of Wnt genes during adult hepatic stem/progenitor cell response. *FEBS Lett*. 2009;583(4):777–81. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.01.022.
 54. Russel JO, Monga SP. Wnt/ β -Catenin Signaling in Liver Development, Homeostasis, and Pathobiology. *Annu Rev Pathol*. 2018;13:351–78.
 55. Tetsu O, McCormick F. β -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature*. 1999;398(6726):422–6. DOI: 10.1038/18884.
 56. Ochoa B, Syn WK, Delgado I, Karaca GF, Jung Y, Wang J, et al. Hedgehog signaling is critical for normal liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Hepatology*. 2010;51(5):1712–23. DOI: 10.1002/hep.23525.
 57. Kolluri A, Ho M. The Role of Glypican-3 in Regulating Wnt, YAP, and Hedgehog in Liver Cancer. *Front Oncol*. 2019;9(August):1–7. DOI: 10.3389/fonc.2019.00708.
 58. Swiderska-Syn M, Xie G, Michelotti GA, Jewell ML, Premont RT, Syn WK, et al. Hedgehog regulates yes-associated protein 1 in regenerating mouse liver. *Hepatology*. 2016;64(1):232–44. DOI: 10.1002/hep.28542.
 59. Grijalva JL, Huizenga M, Mueller K, Rodriguez S, Brazzo J, Camargo F, et al. Dynamic alterations in Hippo signaling pathway and YAP activation during liver regeneration. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2014;307(2):196–204. DOI: 10.1152/ajpgi.00077.2014.
 60. Massague J. Growth Factor- / J Family. *Annu Rev Cell Biol*. 1990;6:597–641.
 61. Ichikawa T, Zhang YQ, Kogure K, Hasegawa Y, Takagi H, Mori M, et al. Transforming growth factor β and activin tonically inhibit DNA synthesis in the rat liver. *Hepatology*. 2001;34(5):918–25. DOI: 10.1053/jhep.2001.29132.
 62. Jirtle RL, Carr BI, Scott CD. Modulation of insulin-like growth factor-II/mannose 6-phosphate receptors and transforming growth factor- β 1 during liver regeneration. *J Biol Chem*. 1991;266(33):22444–50. DOI: 10.1016/s0021-9258(18)54592-0.
 63. Papadimas GK, Tzirogiannis KN, Panoutsopoulos GI, Demonakou MD, Skaltsas SD, Hereti RI, et al. Effect of serotonin receptor 2 blockage on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat liver. *Liver Int*. 2006;26(3):352–61. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01230.x.
 64. Fausto N, Riehle KJ. Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2005;12(3):181–9. DOI: 10.1007/s00534-005-0979-y.

65. Rudolph LK, Trautwein C, Kubicka S, Rakemann T, Bahr MJ, Sedlacek N, et al. Differential regulation of extracellular matrix synthesis during liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Hepatology*. 1999;30(5):1159–66. DOI: 10.1002/hep.510300502.
66. Van Hul NKM, Abarca-Quinones J, Sempoux C, Horsmans Y, Leclercq IA. Relation between liver progenitor cell expansion and extracellular matrix deposition in a CDE-induced murine model of chronic liver injury. *Hepatology*. 2009;49(5):1625–35. DOI: 10.1002/hep.22820.
67. Carpentier R, Suer RE, Van Hul N, Kopp JL, Beaudry J, Cordi S, et al. Embryonic ductal plate cells give rise to cholangiocytes, periportal hepatocytes, and adult liver progenitor cells. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1432–1438. DOI:10.1016/j.gastro.2011.06.049.
68. Shang H, Wang Z, Song Y. Liver progenitor cells-mediated liver regeneration in liver cirrhosis. *Hepatol Int*. 2016;10(3):440–7. DOI:10.1007/s12072-015-9693-2.
69. So J, Kim A, Lee SH, Shin D. Liver progenitor cell-driven liver regeneration. *Exp Mol Med*. 2020;52(8):1230–8. DOI: 10.1016/j.s12276-020-0483-0.
70. Sell S. Comparison of liver progenitor cells in human atypical ductular reactions with those seen in experimental models of liver injury. *Hepatology*. 1998;27(2):317–31. DOI: 10.1002/hep.510270202.
71. Itoh T, Miyajima A. Liver regeneration by stem/progenitor cells. *Hepatology*. 2014;59(4):1617–26. DOI: 10.1002/hep.26753.
72. Stanger BZ. Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver. *Annu Rev Physiol*. 2015;77:179–200. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021113-170255.
73. Van Haele M, Snoeck J, Roskams T. Human liver regeneration: An etiology dependent process. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9). DOI: 10.3390/ijms20092332.
74. Lorenzini S, Bird TG, Boulter L, Bellamy C, Samuel K, Aucott R, et al. Characterisation of a stereotypical cellular and extracellular adult liver progenitor cell niche in rodents and diseased human liver. *Gut*. 2010;59(5):645–54. DOI: 10.1136/gut.2009.182345
75. Boulter L, Govaere O, Bird TG, Radulescu S, Ramachandran P, Pellicoro A, et al. Macrophage-derived Wnt opposes Notch signaling to specify hepatic progenitor cell fate in chronic liver disease. *Nat Med*. 2012;18(4):572–9. DOI: 10.1038/nm.2667.
76. Zhou B, Lin W, Long Y, Yang Y, Zhang H, Wu K, et al. Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):1–33. DOI: 10.1038/s41392-022-00934-y.
77. Duncan AW, Dorrell C, Grompe M. Stem Cells and Liver Regeneration. *Gastroenterology*. 2009;137(2):466–81. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.044.
78. Miyajima A, Tanaka M, Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Cell Stem Cell*. 2014;14(5):561–74. DOI: 10.1016/j.stem.2014.04.010.
79. Tarlow BD, Pelz C, Naugler WE, Wakefield L, Wilson EM, Finegold MJ, et al. Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes. *Cell Stem Cell*. 2014;15(5):605–18. DOI:10.1016/j.stem.2014.09.008. Bipotential.
80. Limaye PB, Bowen WC, Orr A, Apte UM, Michalopoulos GK. Expression of hepatocytic- and biliary-specific transcription factors in regenerating bile ducts during hepatocyte-to-biliary epithelial cell transdifferentiation. *Comp Hepatol*. 2010;9:1–10. DOI: 10.1186/1476-5926-9-9.
81. Ross MA, Sander CM, Kleeb TB, Watkins SC, Stolz DB. Spatiotemporal expression of angiogenesis growth factor receptors during the revascularization of regenerating rat liver. *Hepatology*. 2001;34(6):1135–48. DOI: 10.1053/jhep.2001.29624.
82. LeCouter J, Moritz DR, Li B, Phillips GL, Liang XH, Gerber HP, et al. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: Role of VEGFR-1. *Science*. 2003;299(5608):890–3. DOI: 10.1126/science.1079562.
83. Ding B, Nolan DJ, Butler JM, James D, Alexander O, Rosenwaks Z, et al. Inductive angiocrine signals from sinusoidal endothelium are required for Liver Regeneration. *Nature*. 2011;468(7321):310–5. DOI: 10.1038/nature09493. Inductive.
84. Yokoyama Y, Nagino M, Nimura Y. Mechanisms of hepatic regeneration following portal vein

- embolization and partial hepatectomy: A review. *World J Surg.* 2007;31(2):367–74. DOI: 10.1007/s00268-006-0526-2.
85. Tarlá MR, Ramalho FS, Naira L, Ramalho Z, Castro T, Brandão F, et al. A molecular view of liver regeneration. *Acta Cirúrgica Bras.* 2006;21(Suplemento 1):58–62. DOI: 10.1590/S0102-86502006000700014.
86. Rutherford A, Chung RT. Acute liver failure: Mechanisms of hepatocyte injury and regeneration. *Semin Liver Dis.* 2008;28(2):167–74. DOI: 10.1055/s-2008-1073116.
87. Cressman DE, Diamond RH, Taub R. Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration. *Hepatology.* 1995;21(5):1443–9. DOI: 10.1016/0270-9139(95)90068-3.
88. Taub R. Hepatoprotection via the IL-6/Stat3 pathway. *J Clin Invest.* 2003;112(7):978–80. DOI: 10.1172/JCI19974.
89. Mullany LK, White P, Hanse EA, Nelsen CJ, Goggin MM, Mullany JE, et al. Distinct proliferative and transcriptional effects of the D-type cyclins in vivo. *Cell Cycle.* 2008;7(14):2215–24. DOI: 10.4161/cc.7.14.6274.
90. Gallai M, Sebestyén A, Nagy P, Kovalszky I, Ónody T, Thorgerisson SS. Proteoglycan gene expression in rat liver after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;228(3):690–4. DOI: 10.1006/bbrc.1996.1718.
91. Gkretsi V, Bowen WC, Yang Y, Wu C, Michalopoulos GK. Integrin-linked kinase is involved in matrix-induced hepatocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;353(3):638–43. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.12.091.
92. Gkretsi V, Apte U, Mars WM, Bowen WC, Luo JH, Yang Y, et al. Liver-specific ablation of integrin-linked kinase in mice results in abnormal histology, enhanced cell proliferation, and hepatomegaly. *Hepatology.* 2008;48(6):1932–41. DOI: 10.1002/hep.22537.
93. Sakamoto T, Liu Z, Murase N, Ezure T, Yokomuro S, Poli V, et al. Mitosis and apoptosis in the liver of interleukin-6-deficient mice after partial hepatectomy. *Hepatology.* 1999;29(2):403–11. DOI: 10.1002/hep.510290244.
94. Paranjpe S, Bowen WC, Mars WM, Orr A, Haynes MM, DeFrances MC, et al. Combined systemic elimination of MET and EGFR signaling completely abolishes liver regeneration and leads to liver decompensation. *Hepatology.* 2016;64(5):1711–24. DOI: 10.1002/hep.28721. Combined.
95. Francavilla A, Vujanovic NL, Polimeno L, Azzarone AI, Deleo A, Hagiya M, et al. The In Vivo Effect of Hepatotrophic Factors Augmenter of Liver Regeneration, Hepatocyte Growth Factor, and Insulin-Like Growth Factor-II on Liver Natural Killer Cell Functions. *Hepatology.* 1997;25(2):411–5. DOI: 10.1002/hep.510250225. The.
96. Neill T, Painter H, Buraschi S, Owens RT, Lisanti MP, Schaefer L, et al. Decorin antagonizes the angiogenic network: Concurrent inhibition of met, hypoxia inducible factor 1 α , vascular endothelial growth factor A, and induction of thrombospondin-1 and tiMP3. *J Biol Chem.* 2012;287(8):5492–506. DOI: 10.1074/jbc.M111.283499.
97. Baghy K, Iozzo R V., Kovalszky I. Decorin-TGF β Axis in Hepatic Fibrosis and Cirrhosis. Vol. 60, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry.* 2012. p. 262–8. DOI: 10.1369/0022155412438104.
98. Decicco LA, Rikans LE, Tutor CG, Hornbrook KR. Serum and liver concentrations of tumor necrosis factor α and interleukin-1 β following administration of carbon tetrachloride to male rats. *Toxicol Lett.* 1998;98(1–2):115–21. DOI: 10.1016/S0378-4274(98)00110-6.
99. Jaeschke H, McGill MR, Williams CD, Ramachandran A. Current issues with acetaminophen hepatotoxicity - A clinically relevant model to test the efficacy of natural products. *Life Sci.* 2011;88(17–18):737–45. DOI: 10.1016/j.lfs.2011.01.025.
100. Hoehme S, Brulport M, Bauer A, Bedawy E, Schormann W, Hermes M, et al. Prediction and validation of cell alignment along microvessels as order principle to restore tissue architecture in liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(23):10371–6. DOI: 10.1073/pnas.0909374107.
101. Lee JH, Illic Z, Sell S. Cell kinetics of repair after allyl alcohol-induced liver necrosis in mice. *Int J Exp Pathol.* 1996;77(2):63–72. DOI: 10.1046/j.1365-2613.1996.00964.x.
102. Petersen BE, Zajac VF, Michalopoulos GK. Hepatic

- oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats. *Hepatology*. 1998;27(4):1030–8. DOI: 10.1002/hep.510270419.
- 103.St. Hilaire RJ, Hradek GT, Jones AL. Hepatic sequestration and biliary secretion of epidermal growth factor: Evidence for a high-capacity uptake system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983;80(12):3797–801. DOI: 10.1073/pnas.80.12.3797.
- 104.Bilodeau M, Aubry MC, Houle R, Burnes PN, Éthier C. Evaluation of hepatocyte injury following partial ligation of the left portal vein. *J Hepatol*. 1999;30(1):29–37. DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80005-1.
- 105.Szjártó A, Fülöp A. Triggered liver regeneration: From experimental model to clinical implications. *Eur Surg Res*. 2015;54(3–4):148–61. DOI: 10.1159/000368961.
- 106.Riehle KJ, Dan YY, Campbell JS, Fausto N. New concepts in liver regeneration. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(SUPPL. 1):203–12. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06539.x.
- 107.Niiya T, Murakami M, Aoki T, Murai N, Shimizu Y, Kusano M. Immediate increase of portal pressure, reflecting sinusoidal shear stress, induced liver regeneration after partial hepatectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 1999;6(3):275–80. DOI: 10.1007/s005340050118.
- 108.Morsiani E, Aleotti A, Ricci D. Haemodynamic and ultrastructural observations on the rat liver after two-thirds partial hepatectomy. *J Anat*. 1998;192(4):507–15. DOI: 10.1017/S0021878298003513.
- 109.Lauitt WW, Greenway C V. Conceptual review of the hepatic vascular bed. *Hepatology*. 1987;7(5):952–63. DOI: 10.1002/hep.1840070527.
- 110.Lauber DT, Tihanyi DK, Czigány Z, Kovács T, Budai A, Drozgyik D, et al. Liver regeneration after different degrees of portal vein ligation. *J Surg Res*. 2016;203(2):451–8. DOI: 10.1016/j.jss.2016.03.032.
- 111.Lambotte L, Lit B, Leclercq I, Saliez A, Horsmans Y. The compensatory hyperplasia following ligation of a portal branch. *J Hepatol*. 2000;32:940–5.
- 112.Takeuchi E, Nimura Y, Mizuno SI, Nagino M, Shoji-Kawaguchi M, Izuta S, et al. Ligation of portal vein branch induces DNA polymerases α , β , and γ in nonligated lobes. *J Surg Res*. 1996;65(1):15–24. DOI: 10.1006/jsre.1996.0337.
- 113.Uemura T, Miyazaki M, Hirai R, Matsumoto H, Ota T, Ohashi R, et al. Different expression of positive and negative regulators of hepatocyte growth in growing and shrinking hepatic lobes after portal vein branch ligation in rats. *Int J Mol Med*. 2000;5(2):173–9. DOI: 10.3892/ijmm.5.2.173.
- 114.Starkel P, Horsmans Y, Sempoux C, Saeger C, Wary J, Lause P, et al. After portal branch ligation in rat, nuclear factor κ B, interleukin-6, signal transducers and activators of transcription 3, c-fos, c-myc, and c-jun are similarly induced in the ligated and nonligated lobes. *Hepatology*. 1999;29(5):1463–70. DOI: 10.1002/hep.510290503.
- 115.Ueda J, Chijiwa K, Nakano K. Cyclin expression in the atrophying and proliferating lobes of the liver after portal vein branch ligation and hepatectomy in rats. *J Surg Res*. 2004;120(1):89–96. DOI: 10.1016/j.jss.2003.11.020.
- 116.Stärkel P, Lambotte L, Sempoux C, De Saeger C, Saliez A, Maiter D, et al. After portal branch ligation in the rat, cellular proliferation is associated with selective induction of c-Ha-ras, p53, cyclin E, and Cdk2. *Gut*. 2001;49(1):119–30. DOI: 10.1136/gut.49.1.119.

Recebido em: 07/01/2025

Aceito para publicação em: 06/07/2025

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: nenhuma.

Endereço para correspondência:

Edimar Leandro Toderke

E-mail: edimar.toderke@gmail.com

